

**VERA MARIA CARVALHO SILVA SANTOS**

**ESTUDOS AGRONÔMICOS DE MENTA PARA A PRODUÇÃO DE ÓLEO  
ESSENCIAL E DE MENTOL**

**CURITIBA**

**2012**

**VERA MARIA CARVALHO SILVA SANTOS**

**ESTUDOS AGRONÔMICOS DE MENTA PARA A PRODUÇÃO DE ÓLEO  
ESSENCIAL E DE MENTOL**

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em  
Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal,  
Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de  
Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná,  
como parte das exigências para a obtenção do título de  
Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Cícero Deschamps

Co-Orientador: Prof. Dr. Luiz Antônio Biasi

CURITIBA

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL



## PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO, apresentada pela candidata **VERA MARIA CARVALHO SILVA SANTOS**, sob o título “**ESTUDOS AGRONÔMICOS DE MENTA PARA A PRODUÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E DE MENTOL**”, para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Tese.

Curitiba, 09 de Fevereiro de 2012.

Professora Dra. Louise Larissa May De Mio  
Coordenadora do Programa

Dr. Roberto Fontes Vieira  
Primeiro Examinador

Dr. Cirino Corrêa Junior  
Segundo Examinador

Professor Dr. Átila Francisco Mógor  
Terceiro Examinador

Professor Dr. Luiz Antonio Biasi  
Quarto Examinador

Professor Dr. Cícero Deschamps  
Presidente da Banca e Orientador

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Divino Maestro do Universo pela vida e todas as benções.

Aos meus pais João e Elsa por me trazerem e prepararem para a vida ensinando o caminho do amor.

Ao meu esposo Claudio pelo amor, incentivo, apoio e paciência em todos os momentos.

Aos meus filhos Rafael e João Pedro pelo amor, compreensão, paciência e ajuda.

Às minhas amigas irmãs Tania, Inês, Mel, Marcelle e Mara pelo apoio técnico, emocional, e espiritual.

Ao Prof. Cícero Deschamps por sua orientação, ensinamentos, amizade e conselhos preciosos.

Ao Prof. Antônio Luiz Biasi pela co-orientação pela contribuição, apoio e amizade.

À Universidade Federal do Paraná representada pelos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal Professores, Átila, Kátia, Henrique e Volnei, pelos ensinamentos e apoio.

À EMBRAPA Agroindústria de Alimentos – Rio de Janeiro, pesquisador Dr. Humberto Bizzo pelas análises de composição dos óleos essenciais.

À EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia – Brasília, pesquisador Dr. Roberto Vieira pelo auxílio com a identificação taxonômica das espécies.

Às Coordenadoras do programa de Pós Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, da Universidade Federal do Paraná, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Francine Lorena Cuquel e Louise Larissa May De Mio.

Aos técnicos do Laboratório de Fitotecnia, Gilnei, Maria Emilia e Sr. Rainerio, pelo carinho e presteza na ajuda nos experimentos conduzidos.

Ao Sr. Altair e Sr. Miguel pela amizade e cuidados com os experimentos realizados no Centro Experimental do Canguiri, UFPR. Ao Sr. Aldair e Luciana do Laboratório de Biogeoquímica, pelo auxílio nas análises.

A Secretária do Departamento de Pós Graduação em Agronomia, Lucimara Antunes pela boa vontade em ajudar a todos.

Aos colegas amigos do Laboratório de Ecofisiologia. Rafaellen, Lury, Vanessa, César, Idimar, Magda, Cris, Fábio, Inês, Jéferson, Rodrigo, Marcio, Ana, Deise, Gelton pela ajuda nos experimentos e pelos momentos de descontração e alegria.

Aos demais colegas amigos da pós que compartilharam o aprendizado conjunto das disciplinas.

Ao Instituto Federal Catarinense - IFC / Araquari, pelo apoio na disponibilização de tempo e estrutura para a realização dos experimentos, em especial à Prof<sup>a</sup>. Joice.

A todos os meus alunos pelo aprendizado conjunto e ajuda na condução dos experimentos. Aos colegas amigos do Colégio Agrícola de Araquari, Tania, Franke, Paulo Afonso e Luciano e pelas parcerias, debates técnicos, amizade e apoio.

Em especial agradeço a ajuda amorosa e valorosa da minha mãe sem a qual não seria possível a realização deste trabalho,

A todas as pessoas que de alguma forma colaboraram pelo desenvolvimento deste trabalho,

Meu muitíssimo obrigado!

## **BIOGRAFIA**

VERA MARIA CARVALHO SILVA SANTOS, filha de João Silva Santos e Maria Elsa Araújo Montalvão Carvalho Silva Santos, nascida em 06 de julho de 1961, em Lisboa, Portugal. Casada com Claudio Marques Paz, tem dois filhos, Rafael Santos Paz e João Pedro Santos Paz.

Cursou o ensino fundamental no St. Julian's School of Carcavelos e no Liceu Nacional de Oeiras em Portugal e o ensino médio no Colégio Social, em Salvador, BA e no Colégio São Vicente de Paula, em Niterói, RJ.

Em 1983 recebeu o diploma de Agronomia, pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e em 1992 o diploma de especialização em Agricultura Tropical pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

No ano de 2000 terminou o mestrado em Biotecnologia pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e em 2008 ingressou no doutorado em Produção Vegetal pela Universidade Federal do Paraná (UFPR).

Leciona desde 1986 no Instituto Federal Catarinense / Campus Araquari, as disciplinas de Agroecologia, Olericultura e Apicultura, onde coordena os projetos de Plantas Medicinais e Apicultura.

## RESUMO

A família Lamiaceae inclui diversas espécies aromáticas. O gênero *Mentha* é o mais importante em função de agrupar grande número de espécies produtoras de óleo essencial. O mentol é o constituinte de maior valor comercial com acentuada demanda pelas indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e de higiene pessoal. Apesar do Brasil já ter sido o maior produtor mundial de mentol, a partir da década de 80 passou à condição de importador, gastando em torno de US\$ 10 milhões / ano. A produção de óleo essencial depende das características genéticas e das condições ambientais edafoclimáticas específicas, exigindo estudos fisiográficos regionais. Objetivando a produção de óleo essencial de menta com elevado teor de mentol, foram testados 10 genótipos e diferentes alternativas de propagação no Litoral Norte Catarinense, no município de Araquari, Santa Catarina. Os experimentos foram realizados de novembro de 2008 a junho de 2009, com delineamento em blocos casualizados e esquema fatorial, com duas avaliações. O genótipo *Mentha canadensis* L. apresentou adaptação local e potencial de produção expressos pela produtividade de 186,9 litros por hectare de óleo essencial com teores de mentol entre 89,6 e 92,7%. No segundo experimento foram comparadas quatro estruturas de propagação (estolões com 10, 15 e 20 cm de comprimento e mudas de estacas com 5 cm de comprimento) em duas épocas de colheita (95 dias após o plantio e 60 dias após a rebrota). A propagação por estolões de 20 cm é considerada uma alternativa viável para menta, por apresentar níveis similares de produção de óleo essencial e de mentol a partir da segunda colheita. Dando continuidade à linha de pesquisa da UFPR em Pinhais, Paraná, com o genótipo previamente selecionado *Mentha canadensis* foram conduzidos mais dois experimentos de setembro de 2009 a maio de 2010. Visando a produção do óleo essencial foram avaliados em casa de vegetação e em vasos, com delineamento inteiramente casualizado, a influência dos bioestimulantes, extrato de alga e ácido fúlvico (50, 250 e 500 mg kg<sup>-1</sup>) em aplicações foliares e no solo. Todos os tratamentos aumentaram a produtividade de óleo essencial. A campo, com delineamento casualizado, esquema fatorial e duas épocas de colheita, foi testado o efeito de pulverizações conjuntas e isoladas dos bioestimulantes, extrato de alga e ácido fúlvico (50 mg kg<sup>-1</sup>), na produtividade de óleo essencial, comparando-se também o rendimento da hidrodestilação com a destilação por arraste. Análises elementares de nitrogênio, fósforo e potássio foram realizadas nas folhas, torta residual de destilação e hidrolato. As pulverizações com extrato de alga e ácido fúlvico e as épocas de colheita não apresentaram diferença significativa para produtividade de óleo essencial. O rendimento de óleo essencial na hidrodestilação foi maior do que na destilação por arraste de vapor, sendo que a forma de extração não altera a qualidade do óleo essencial. O potássio não é removido no hidrolato. A análise nutricional da torta residual de destilação determinou a exportação de 121,3 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, 289 kg ha<sup>-1</sup> de potássio e 29,1 kg ha<sup>-1</sup> de fósforo em duas colheitas evidenciando a necessidade da sua devolução na forma de cobertura morta.

**Palavras - chave:** Lamiaceae, *Mentha*, recursos genéticos, propagação, bioestimulantes, composição de óleo essencial.

## ABSTRACT

Lamiaceae family includes a great number of aromatic species. The genus *Mentha* is the most important due to the essential oil production of several species. Menthol is the main constituent of economic importance intensively required by the pharmaceutical, cosmetic, food and personal care industries. Although Brazil was the world's leading menthol producer in the past, it now imports annually approximately US\$ 10 million of this essential oil. Mint species have been sorely investigated worldwide due to their global importance. However, in addition to genotypic characteristics, mint oil production and high menthol content are also affected by environmental regulation, such as edaphoclimatic variations, requiring physiographic local studies. In order to obtain high production of mint essential oil and high menthol content 10 genotypes and different propagation alternatives were investigated at Southern Brazil, in the municipality of Araquari, Santa Catarina. From November 2008 to June 2009 the experiments were conducted on an experimental design established in randomized factorial blocks with two evaluations. *Mentha canadensis* L. genotype presented greater adaptability to local conditions, evidenced by the highest essential oil productivity of 187 liters per hectare with menthol content ranging from 89,6 to 92,7%. The second experiment compared essential oil and menthol production of four propagation structures (stolon with 10, 15 and 20 cm and stem cuttings with 5 cm) with two harvest times. The use of 20 cm stolons as a propagation structure can be considered a viable alternative for mint once it provides similar levels of essential oil and menthol production after the second harvest. Continuing the research line of UFPR at Pinhais, Paraná, another two experiments were conducted from September 2009 to May 2010 with the previously selected genotype, *Mentha canadensis*. With the aim of increasing essential oil production, the influence of the biostimulants: seaweed extract and fulvic acid (50, 250 e 500 mg kg<sup>-1</sup>) using soil and foliar application were investigated in pots in a greenhouse with a completely randomized design. All the treatments increased the essential oil yield when compared to control. At field condition with a randomized block factorial design and two harvest time, the isolated and synergic action of spraying the biostimulants: seaweed extract and fulvic acid (50 mg kg<sup>-1</sup>) on essential oil productivity was studied as well as the comparison between hydrodistillation and steam distillation. Elemental analysis of nitrogen, phosphorus and potassium determined the contents on leaves, distillation wastes and hydrolate. Neither harvest time nor spraying with seaweed extract and fulvic acid affected essential oil production. Hydrodistillation provided higher essential oil yield than steam distillation but the essential oil quality presented no changes due to the extraction form. Potassium is not removed with the hydrolate. Nutritional analysis of distillation waste showed that during two productive mint cycles 121,3 kg ha<sup>-1</sup> of nitrogen, 289 kg ha<sup>-1</sup> of potassium and 29,1 kg ha<sup>-1</sup> of phosphorus were exported from the soil by the crop indicating the importance of recycling mint distillation waste as mulching.

**Key Words:** Lamiaceae, *Mentha*, genetic resources, propagation, bioestimulantes, essential oil composition.

## LISTA DE TABELAS

### INTRODUÇÃO

TABELA 1. Usos, rendimento e constituintes do óleo essencial (O.E.) de espécies importantes de menta.....	25
---	----

### SEASONAL VARIATION OF VEGETATIVE GROWTH, ESSENTIAL OIL YIELD AND COMPOSITION OF MENTHOL MINT GENOTYPES AT SOUTHERN BRAZIL

TABELA 1. Identification of genotype from mint collection (MC) evaluated in this study.....	45
TABELA 2. Plant height, dry leaf yield and total dry yield (herb yield) of mint species at two harvests.....	48
TABELA 3. The leaf/herb ratio of mint species at two harvests.....	49
TABELA 4. Essential oil content (%) and essential oil yield (L/ha) of mint genotypes at two harvests time.....	50
TABELA 5. Menthol yield (L/ha) of mint genotypes at two harvests time.....	51
TABELA 6. Qualitative and quantitative composition of the essential oil from ten mint genotypes at two harvests.....	52

### ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE

TABELA 1- Análise de solo da área experimental, coletado na profundidade de 0-20 cm. Araquari-SC, 2009.....	64
TABELA 2. Massa seca de folhas (MSF), caules (MSC) e total (MST) (Kg ha <sup>-1</sup> ) em <i>Mentha canadensis</i> L. sob quatro métodos de propagação e duas épocas de colheita. Araquari, SC, 2009.....	67
TABELA 3. Rendimento (µL g MS <sup>-1</sup> ), produtividade de óleo essencial (L ha <sup>-1</sup> ) e de mentol (L ha <sup>-1</sup> ) em <i>Mentha canadensis</i> L. sob 4 métodos de propagação e duas épocas de colheita seqüenciais. Araquari, SC, 2009.....	68
TABELA 4. Constituintes majoritários (%) no óleo essencial de <i>Mentha canadensis</i> L. sob 4 métodos de propagação e duas épocas de colheita seqüenciais. Araquari, SC, 2009.....	70

### EXTRATO DE ALGA E ÁCIDO FÚLVICO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L.

TABELA 1 - Análise de solo usado como substrato para propagação em bandejas de tubetes e nos vasos experimentais. Pinhais-PR, 2009.....	79
TABELA 2 - Tratamentos no experimento de <i>Mentha canadensis</i> L. Pinhais-PR, 2009.....	79
TABELA 3 – Massa seca de folhas (MSF), Massa seca de caules (MSC), massa seca total (MST) e relação MSF/MST, em função dos tratamentos: T-Testemunha; AFS-Ácido fúlvico solo; AFF- Ácido fúlvico foliar; EAS- Extrato de alga solo; EAF- Extrato de alga foliar (Anexo 25) Pinhais, 2010.....	83
TABELA 4 –Rendimento, e produtividade de óleo essencial em função dos tratamentos: AFS – ácido fúlvico solo, AFF – ácido fúlvico foliar, EAS – extrato da alga solo, EAF –extrato da alga foliar, Pinhais, 2010.....	87



**BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE DE VAPOR E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.....**

TABELA 1- Análise de solo das duas áreas experimentais, área da lavanda referente ao experimento de propagação e a área atrás da espinheira santa referente ao experimento de extração e manejo, coletado na profundidade de 0-20 cm. Pinhais-PR, 2009.....	98
TABELA 2- Análise de solo da área experimental, nitrogênio e micronutrientes, ferro, manganês, cobre e zinco. Amostra coletada à profundidade de 0-20 cm. Pinhais-PR, 2009..	98
TABELA 3 - Tratamentos usados no experimento de <i>Mentha canadensis</i> L. Pinhais-PR, 2009.....	99
TABELA 4 – Massa seca de folhas (MSF), Massa seca de caules (MSF), Massa seca total (MST) e relação MSF/MST, em função dos tratamentos: AS – sem adubação; AC – com adubação NPK; AF – com adubação e AF; EA – com adubação e EA; EF + EA – com adubação, ácido fúlvico (AF) e extrato de alga (EA), Pinhais, 2010.....	107
TABELA 5. Massa seca de folhas (MSF), Massa seca de caules (MSF), Massa seca total (MST) e relação MSF/MST, na 1ª e 2ª colheitas, Pinhais, 2010.....	109
TABELA 6 - Rendimento de óleo essencial ( $\mu\text{l g}^{-1}$ MS) por hidrodestilação em Clevenger nos tratamentos, na 1ª e 2ª colheitas, em Pinhais – PR, 2010.....	111
TABELA 7 - Produtividade de óleo essencial por hidrodestilação em Clevenger em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA+AF – com adubação e AF; CA+EA – com adubação e EA; CA+AF+EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga em Pinhais – PR, 2010.....	111
TABELA 8 - Rendimento de óleo essencial em destilação por arraste, em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA+AF – com adubação e AF; CA+EA – com adubação e EA; CA+AF+ EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.....	112
TABELA 9 - Produtividade de óleo essencial em destilação por arraste, em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA+AF – com adubação e AF; CA+EA – com adubação e EA; CA+AF+EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.....	113
TABELA 10. Constituintes majoritários (%) no óleo essencial de <i>Mentha canadensis</i> L. em hidrodestilação e destilação de arraste por vapor. Pinhais, 2010.....	115
TABELA 11 - Macronutrientes foliares em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; AF – com adubação e AF; EA – com adubação e EA; EF + EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.....	116
TABELA 12 - Teores de N, C, C/N, K e P das colheitas de janeiro e maio, em Pinhais – PR, 2010.....	117
TABELA 13 - Teores de Potássio ( $\text{g Kg}^{-1}$ ) em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA+AF – com adubação e AF; CA+EA – com adubação e EA; CA+AF+EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.....	118
TABELA 14 - Teores de macronutrientes na torta residual da 1ª colheita em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA+AF – com adubação e AF; CA+ EA – com adubação e EA; CA+AF + EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.....	118
TABELA 15 - Teores de macronutrientes na torta residual da 1ª colheita em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA+AF – com adubação e AF; CA+ EA – com adubação e EA; CA+AF + EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.....	119
Tabela 16 - Média dos teores de macronutrientes na torta residual na 1ª colheita e na 2ª colheita, em Pinhais – PR, 2010.....	119

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO

FIGURA 1 - Cadeia de reações de biossíntese do Mentol em *Mentha x piperita*. Fonte: CROTEAU *et al.*, 2005..... 30

### EXTRATO DE ALGA E ÁCIDO FÚLVICO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L.

FIGURA 1 - Cronograma esquemático do experimento: Abio - aplicação de bioestimulantes..... 80

FIGURA 2 - A- Implantação do experimento, B- Experimento aos 5 dias, C- Experimento aos 30 dias, D- Pulverização foliar com o substrato e plantas laterais protegidas por plástico..... 81

FIGURA 3 - Tratamentos aos 65 dias: A- AFS 50; B-AFS 250; C- AFS 500; D- AFF 50; E- AFF 250; F- AFF 500; G- EAS 50; H- EAS 250; I- EAS 500; J- EAF 50; K- EAF 250; L- EAF 500; M- Testemunha; Pinhais –PR, 2010..... 85

### BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE DE VAPOR E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.....

FIGURA 1 – Temperaturas médias máximas, mínimas e médias mensais, na região de Pinhais - PR durante o período de condução do experimento. Fonte: SIMEPAR..... 97

FIGURA 2 - Precipitação e umidade relativa média mensal e radiação acumulada, na região de Pinhais - PR durante o período de condução do experimento. Fonte: SIMEPAR..... 97

FIGURA 3 - Cronograma esquemático de manejo da cultura e aplicação de bioestimulantes após o Transplante (AT) e após a brotação de poda (BP)..... 100

FIGURA 4 - A- Muda de estaquia em tubetes, B-Estágio inicial da cultura de Menta, C- Pulverização de bioestimulantes, D- Estágio de colheita (abril-2010)..... 101

FIGURA 5 - Hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger..... 102

FIGURA 6 - A- Destilação por arraste de vapor, B- Finalização da destilação – descarga da dorna, C- Caldeira de vapor, D- Torta residual da destilação..... 103

FIGURA 7- Determinação de P e K. A- Amostras saídas da mufla em cadinhos com HCl. B- Filtração da extração ..... 105

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
REFERÊNCIAS.....	16
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>18</b>
<b>2.1 MENTHA: ASPECTOS AGRONÔMICOS.....</b>	<b>18</b>
2.1.1 SISTEMAS DE PRODUÇÃO.....	21
2.1.2 PROPAGAÇÃO E DENSIDADE DE PLANTIO.....	22
2.1.3 SOLO E NUTRIÇÃO.....	23
<b>2.2. MENTHA: ASPECTOS FITOQUÍMICOS.....</b>	<b>25</b>
2.2.1 PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL EM MENTHA.....	26
2.2.2 MENTOL.....	29
2.2.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL.....	30
<b>2.3 BIOESTIMULANTES E MODO DE AÇÃO.....</b>	<b>32</b>
2.3.1 EXTRATO DE ALGA MARINHA.....	33
2.3.2 ÁCIDO FÚLVICO.....	34
REFERÊNCIAS.....	36
<b>3 SEASONAL VARIATION OF VEGETATIVE GROWTH, ESSENTIAL OIL YIELD AND COMPOSITION OF MENTHOL MINT GENOTYPES AT SOUTHERN BRAZIL...</b>	<b>43</b>
ABSTRACT.....	43
3.1 INTRODUCTION.....	44
3.2 MATERIAL AND METHODS.....	45
3.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	47
3.4 CONCLUSION.....	54
RESUMO.....	54
ACKNOWLEDGMENTS.....	55
REFERENCES.....	56
<b>4 ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Mentha canadensis</i> L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE.....</b>	<b>59</b>
RESUMO.....	59
ABSTRACT.....	60
4.1 INTRODUÇÃO.....	61
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	63
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
4.4 CONCLUSÃO.....	71
AGRADECIMENTO.....	72
REFERÊNCIAS.....	72

<b>5 EXTRATO DE ALGA E ÁCIDO FÚLVICO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Mentha canadensis</i> L.....</b>	<b>75</b>
RESUMO.....	75
ABSTRACT.....	76
5.1 INTRODUÇÃO.....	77
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	78
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	82
5.4 CONCLUSÃO.....	89
REFERÊNCIAS.....	90
 <b>6 BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE DE VAPOR E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM <i>Mentha canadensis</i> L.....</b>	 <b>93</b>
RESUMO.....	93
ABSTRACT.....	94
6.1 INTRODUÇÃO.....	95
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	96
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	106
6.3.1 Desenvolvimento vegetativo.....	106
6.3.2 Extração de óleo essencial por hidrodestilação em Clevenger.....	110
6.3.3 Extração de óleo essencial por destilação por arraste de vapor.....	112
6.3.4 Composição do OE Hidrodestilação x Destilação por arraste de vapor.....	115
6.3.5 Extração de nutrientes.....	116
6.3.5.1 Análise foliar de nutrientes.....	116
6.3.5.2 Análise de nutrientes na torta residual de destilação.....	118
6.4 CONCLUSÃO.....	121
REFERÊNCIAS.....	122
 <b>7 CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	 <b>126</b>
 <b>8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	 <b>128</b>
 <b>ANEXOS.....</b>	 <b>129</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A humanidade sempre dependeu do mundo vegetal de uma infinidade de formas. O homem vem fazendo uso das plantas como alimento, fonte de energia, calor, luz e terapêutica. Em função da explosão populacional, da globalização e do aumento da dimensão de escala das indústrias, a demanda por plantas medicinais, aromáticas e condimentares vem sendo crescente desde a década de 70 em todo o mundo. No final dessa década a Organização Mundial da Saúde (OMS) constatava que 80% da população dos países em desenvolvimento não tinham acesso aos sistemas públicos de saúde, fazendo uso de práticas de medicina tradicional, plantas medicinais ou preparações destas. Em função disso, foi criado o primeiro Programa de Medicina Tradicional, onde a OMS recomendava aos estados-membros “o desenvolvimento de políticas públicas para facilitar a integração da medicina tradicional e da medicina complementar alternativa nos sistemas nacionais de atenção à saúde, assim como promover o uso racional dessa integração”. Estas recomendações foram reinteradas em 1987, na Assembléia Mundial da Saúde, no plano de estratégias globais para 2002 – 2005 e novamente o compromisso foi reforçado em 2008 (BRASIL, 2006; WHO, 1998; WHO, 2008).

No Brasil, desde 1981 o Ministério da Saúde já definia o estudo das plantas medicinais como meta prioritária. Em 1982 o Programa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos (CEME) incentivou as pesquisas de validação farmacológica de preparações de uso popular à base de plantas medicinais. Em 2001, a Proposta de Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos tinha como objetivo “garantir o acesso e o uso racional das plantas medicinais e dos medicamentos fitoterápicos, com segurança, eficácia e qualidade, contribuindo assim para o desenvolvimento deste setor no País” incluindo a disponibilização da fitoterapia nos atendimento do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2001). Esta intenção é reforçada em 2006 pelo Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos com o objetivo de “garantir à população brasileira o acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (BRASIL, 2006). Como consequência, o número de municípios a disponibilizar fitoterápicos no SUS aumenta a cada dia. A intensa demanda pela

utilização de plantas medicinais e aromáticas torna o cultivo e/ou o extrativismo dessas plantas uma alternativa cada vez mais importante na agricultura nacional (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 1994). Apesar da cadeia produtiva das plantas medicinais e aromáticas ser considerada como “área portadora de futuro”, os arranjos produtivos no Brasil não se consolidaram de forma consistente e o país continua importando toneladas de plantas medicinais e aromáticas, além de óleos essenciais para atender às necessidades da fitoterapia e da indústria nacional. A agricultura familiar representa 85,1% dos estabelecimentos agropecuários, emprega 2/3 dos postos de trabalho no campo e responde pela produção de 80% dos alimentos consumidos pelos brasileiros (BRASIL, 2006). A incorporação do cultivo de plantas medicinais e aromáticas como estratégia de agregação de valor e renda na agricultura familiar depende de estudos agrônômicos e fitoquímicos. Estas informações podem viabilizar programas que visem a produção sustentável de matéria prima para as indústrias de produção de fitoterápicos e fitofármacos e que permitam a redução dos riscos de produção e aumentando a rentabilidade dos produtores rurais.

Nativas da Europa e Ásia, as mentas, são cultivadas em todos os continentes, exceto na Antártica. Conhecidas no Brasil como hortelã, hortelã-pimenta, menta inglesa e menta japonesa, são plantas largamente usadas na culinária e como medicinal, apresentando ação analgésica, estimulante das funções gastrointestinais, cardíacas e respiratórias, estimulante do sistema nervoso central, vasodilatadora e vermífuga. Em dermatologia, seu uso tópico age como antiséptico, analgésico, antiprurido, produzindo a sensação de refrescância e favorecendo a permeação das formulações pela derme. O constituinte de maior valor comercial é um monoterpene denominado mentol. O mentol é amplamente usado nas indústrias farmacêutica, cosmética, higiene pessoal e oral e na indústria alimentícia (de alimentos processados, bebidas, cigarros e como aroma, fragrância ou conservante) (PATEL *et al.*, 2007; LAWRENCE, 2007).

Segundo Bizzo *et al.* (2009) o mercado mundial de óleo essencial (OE) de *Mentha* excede os US\$ 400 milhões anuais, sendo os principais países produtores China, Índia e EUA. O Brasil já foi o maior produtor mundial de óleo essencial de menta. Nas últimas décadas, o país vem importando em média US\$ 10 milhões/ano de mentol. Dados fornecidos pelo sistema ALICE-WEB contabilizam US\$ 12,8

milhões gastos com a importação de 522 toneladas de óleos essenciais de *Mentha* em 2011, somente até o mês de Setembro.

A reversão deste quadro é favorecida pela demanda do mercado e pela atual valorização do mentol natural, ideal para produtos alimentícios e farmacêuticos pela sua pureza (GRIZI *et al.*, 2006). O suprimento interno da demanda das empresas nacionais por OE de menta e de mentol poderá representar uma boa estratégia de geração e distribuição de renda.

Para isso, um dos fatores determinantes consiste na avaliação e seleção de genótipos das coleções de germoplasma de *Mentha* disponíveis, em cada região com potencial produtivo. Aliando o entendimento dos mecanismos de interação das características genotípicas com as condições ambientais bióticas e abióticas, torna-se possível a seleção de técnicas de manejo que melhorem as características fenotípicas, fenológicas e fisiológicas, possibilitando melhor rendimento e qualidade do óleo essencial (SHASANY *et al.*, 2010).

Sendo a produtividade de óleo essencial o produto da biomassa pelo rendimento de óleo essencial, qualquer estratégia, manejo ou trato cultural que favoreça um destes componentes será desejável. A outra preocupação deve ser com a qualidade do óleo essencial que terá seu valor comercial estabelecido de acordo com a sua composição química. Pelo exposto, qualquer pesquisa que vise a produção de óleo essencial deverá necessariamente ser regionalizada e contemplar esse tripé, produção de biomassa, rendimento de óleo essencial e sua composição.

No Brasil, desde 2002, a da EMBRAPA - Recursos Genéticos e Biotecnologia – DF vem realizando a caracterização química de 27 acessos genéticos de *Mentha* introduzidos no País, oriundos da Purdue University, E.U.A. Em 2003, mais 45 genótipos foram obtidos de instituições de pesquisa nacionais (SILVA *et al.*, 2006; GRIZI *et al.*, 2006; GRACINDO *et al.*, 2006). Esta coleção de germoplasma de *Mentha*, acrescida de variedades regionais, vem sendo pesquisada desde 2005 na UFPR para avaliação da adaptação às condições edafoclimáticas de Curitiba, mais especificamente em Pinhais. Em estudos realizados na UFPR com uma coleção de 80 genótipos de *Mentha* foram selecionaram em experimentos preliminares, dez com elevado teor de mentol (DESCHAMPS *et al.*, 2008; MONTEIRO, 2009).

O objetivo geral desta pesquisa foi o de realizar estudos agrônômicos e fitoquímicos que conduzissem ao aumento de produtividade de óleo essencial de menta e de mentol. Para tal, as pesquisas foram conduzidas em duas frentes.

Inicialmente e em função da ausência de estudos sobre *Mentha* nas condições edafoclimáticas do Litoral Norte Catarinense, no município de Araquari, Santa Catarina, foi conduzida a investigação de adaptação do germoplasma. Dez genótipos previamente selecionados por Monteiro (2009) na região de Curitiba e com elevado teor de mentol no OE foram avaliados, além de um estudo sobre as técnicas de propagação vegetativa. Em ambos os experimentos foram quantificados os parâmetros de desenvolvimento vegetativo, produção de óleo essencial e a qualidade do óleo essencial, direcionada à produção de mentol, nas condições locais específicas.

Numa segunda etapa, foram retomadas as pesquisas preliminares em Pinhais, Paraná, já utilizando o genótipo *M. canadensis* L. selecionado por Monteiro (2009) por ter apresentado maior produtividade de OE e maior teor de mentol no OE. Na tentativa de ativar o metabolismo primário aumentando a produção de biomassa ou o metabolismo secundário pela maior produção de OE, foi avaliado o uso de bioestimulantes. Como alternativas de manejo da cultura foram usados o extrato de alga marinha e o ácido fúlvico. As plantas foram cultivadas em vasos, em casa de vegetação, com aplicação de pulverizações foliares e no substrato, em várias concentrações. Ainda em Pinhais, a ação conjunta e isolada de pulverizações com esses 2 insumos na produção de OE foi testada a campo sendo avaliados os métodos de extração por hidrodestilação e por arraste de vapor. O teor dos macronutrientes primários, nitrogênio, fósforo e potássio na cultura da menta foram investigados por análises foliares e na torta residual de destilação e no hidrolato.



## REFERÊNCIAS

- ALICE-web: <http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/>  
Secretaria de Comercio Exterior (SECEX) do Ministério do Desenvolvimento, Industria e Comércio Exterior (MDIC) acessado em 02/11/11.
- BIZZO, H.R.; HOVELL A.M.C.; AND REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quím. Nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Proposta de Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos. Brasília, DF, 2001. Acessado em 13/11/11.  
[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cd03\\_18.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cd03_18.pdf)
- BRASIL. Ministério da Saúde. Política Nacional de Plantas Medicinal e Fitoterápicos. Brasília, DF, 2006. Acessado em 13/11/11  
[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica\\_nacional\\_fitoterapicos.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf)
- CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. **Cultivo de plantas medicinais condimentares e aromáticas**. Curitiba: EMATER, 1994, 151 p.
- DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J.L.; BIZZO, H.R.; OLIVEIRA, M.C. AND ROSWALKA, L.C. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em espécies de Menta. **Ciênc. Agrotec.**, v. 32, p. 725-730, 2008.
- GRACINDO, L.A.M.B.; GRIZI, M.C.M.; SILVA, D.B.; ALVES, R.B.N.; BIZZO, H.R. AND VIEIRA, R.F. Chemical characterization of mint (*Mentha spp.*) germoplasm at Federal District, Brazil. **Rev. Bras. Pls. Med.**, v. 8, p. 5-9, 2006.
- GRIZI, M.C.M.; SILVA, D.B.; ALVES, R.B.N.; GRACINDO, L.A.M.B. AND VIEIRA, R.F. Avaliação de genótipos de Menta (*Mentha spp.*) nas condições do Distrito Federal, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 8, p. 33-39, 2006.
- LAWRENCE, B. M. **Mint : the genus mentha** / Brian M. Lawrence. Mints (Plants) I. Title. Taylor & Francis Group, LLC, 547p. 2007.
- MONTEIRO, R. Desenvolvimento de Menta e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo. 2009, 80 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2009.

PATEL, T.; ISHIUJI, Y.; YOSIPOVITCH, G. Menthol: A refreshing look at this ancient compound. Review. **J. Am. Acad. Dermatol.** V.10, n. 04 p.1-6, 2007.

SHASANY, A.K.; GUPTA S.; GUPTA, M.K.; NAQVI, A.A.; BAHL, J.R. AND KHANUJA, S.P.S. Assessment of menthol mint collection for genetic variability and monoterpeno biosynthetic potential, **Flav. and Frag. J.** v. 25, p. 41–47, 2010.

SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; ALVES, R. B. N.; MENDES, R. A.; CARDOSO, L. D.; QUEIROZ, L.; SANTOS, I. R. I. Mint (*Mentha* spp.) germoplasm in Brazil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.esp., p.27-31, 2006.

\_\_\_\_\_. WHO. World Health Organization. Guidelines for the appropriate use of herbal medicines. Manila: WHO, 1998. Acessado em 13/11/11  
<http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Jh2945e/>

\_\_\_\_\_. WHO. World Health Organization. Traditional Medicine. Fact sheet N°134. Geneve. dec. 2008. Acessado em 13/11/11  
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *MENTHA*: ASPECTOS AGRONÔMICOS

O gênero *Mentha* é o mais importante da família Lamiaceae em função de agrupar grande número de espécies e híbridos que produzem óleo essencial com elevado valor comercial. Cultivada há mais de 2000 anos, sua taxonomia é complexa, por abrigar mais de 3000 epítetos publicados. Em revisão taxonômica criteriosa do gênero *Mentha* spp. foi definida a existência de 18 espécies e 11 híbridos (TUCKER & NACZI, 2007).

As mentas também chamadas de hortelã são plantas herbáceas e perenes com altura variável entre 20 e 70 cm de acordo com o material genético e as condições de manejo (BIASI & DESCHAMPS, 2009). Na natureza, as espécies do gênero *Mentha* exibem grande variabilidade, não só morfológica como também no rendimento de óleo essencial e sua composição, podendo apresentar diferentes aromas. Esta variabilidade pode ser atribuída à hibridização interespecífica natural que tem levado à formação de híbridos que diferem significativamente dos seus ascendentes sendo frequentemente denominados como espécimes diferentes (SHASANY *et al.*, 2010). As características de algumas das espécies e híbridos mais difundidas são apresentadas abaixo:

*Mentha canadensis* L.: segundo Tucker & Naczi, 2007 esta é a denominação taxonômica correta para a menta de mentol “cornmint” e não suas sinonímias *M. arvensis* L., *M. arvensis* f. *piperascens* Malnvi.ex Holmes. Esta menta é principal fonte de mentol há mais de 100 anos, com teores entre 68 e 80%. Foi introduzida na Índia na década de 80, apresentando boa adaptação a clima tropical e semi-temperado. Desde a década de 90 fornece 75% da produção mundial de mentol. Apresenta grande variação de quimiotípos. As características de *Mentha canadensis* que a diferenciam de *M. arvensis* são as folhas lineares a oblanceoladas, decrescendo de tamanho no ápice do caule com inflorescência e o odor e sabor mentolado que são fortes em toda a planta (TUCKER & NACZI, 2007).

*Mentha arvensis* L.: segundo Lorenzi & Matos (2008), esta planta é também denominada hortelã do Brasil, hortelã japonesa e vique. É uma erva anual ou perene, ereta com 30 a 60 cm de altura com folhas oval-oblongas ou oblongas

lanceoladas, levemente denteadas, pubescentes e muito aromáticas, medindo de 2 a 7 cm de comprimento. Flores esbranquiçadas, reunidas em inflorescências terminais. O odor e sabor mentolado são fortes em toda a planta. Esta espécie de origem oriental, trazida pelos japoneses, foi cultivada em larga escala no sudeste, sul do Brasil e Paraguai para a produção de mentol (LORENZI & MATOS, 2008).

*Mentha x piperita* var. *citrate* (Ehrh.) Briq. é chamada também de hortelã, hortelã-pimenta, menta-inglesa e hortelã das cozinhas. É uma erva anual ou perene, ereta de aproximadamente 30 cm de altura, semi-ereta, com ramos cor verde escura a roxa-purpúrea. Folhas elíptico-acuminadas, denteadas, pubescentes e muito aromáticas. De origem europeia, foi trazida no período da colonização sendo muito cultivada como planta medicinal em todo o Brasil (LORENZI & MATOS, 2008).

*Mentha x villosa* Huds. é conhecida popularmente como hortelã rasteira, hortelã de panela e menta vilosa. Erva perene, ereta, com 30 a 40 cm de altura é originária da hibridação de *Mentha spicata* X *M. suaveolens*, realizada na Europa sendo cultivada em vários países, inclusive no Brasil. As folhas ovais, curtamente pecioladas apresentam aroma forte e característico. As eventuais flores ficam dispostas em espigas curtas e terminais. É a espécie com grande importância medicinal e social por sua ação contra microparasitas intestinais (LORENZI & MATOS, 2008).

A menta é uma espécie que pode ser considerada perene ou semi-perene, com crescimento rápido, raízes vigorosas e facilidade de rebrota (CZEPAK, 1998). Originárias de clima temperado as mentas se adaptam bem a climas subtropicais com boa luminosidade e precipitação entre 1300 e 2000 mm/ano. Suportam altas temperaturas desde que não haja deficiência de água no solo e toleram temperaturas baixas, sendo prejudicadas pelas geadas. Pode ser plantada em regime de monocultivo, fornecendo 2 a 3 cortes por ano, por até 4 anos (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 1994). A colheita é feita no início do florescimento entre 3 a 4 meses após o plantio, de preferência em dias secos, durante o período da manhã. Segundo Silva Júnior *et al.* (1994) um cultivo suporta até 10 cortes, podendo ser feitos 3 colheitas por ano, com intervalos de 3 meses. A menta se presta ao plantio mecanizado como nos E.U.A., mas também se presta ao cultivo no sistema de agricultura familiar em rotação com as demais culturas, que em regime de associativismo pode contribuir para a promoção do desenvolvimento socioeconômico regional. No entanto, faltam estudos de desenvolvimento de

sistemas de cultivo que possam dar embasamento tecnológico e segurança ao produtor (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2004).

O Brasil já foi o maior produtor mundial de menta entre as décadas de 40 e 70, com a produção concentrada no Estado do Paraná, produzindo mais de 95%, seguido de São Paulo. Os primeiros relatos de produção de óleo essencial são da região Sul, em 1925, na fazenda Britânia, localizada no município de Pato Bragado, no oeste do Paraná. Segundo Czepak *et al.* (2008) o cultivo de menta para a produção de óleo essencial no norte do Paraná teve início em 1942. Mudas de *Mentha arvensis* foram trazidas para o estado do Paraná por imigrantes japoneses vindas da Fazenda São Bartolomeu em Paraguaçu Paulista onde haviam sido introduzidas em 1936, provenientes da China.

A menta se desenvolveu como cultura desbravadora exigindo fertilidade do solo e água. A implantação da cultura se dava com a derrubada das florestas e limpeza da área, ocupando a planta rapidamente toda a superfície do solo em função da sua característica rizomatosa. A colheita da menta ocorria alguns meses após o plantio, com enxada devido à presença de muitos tocos remanescentes da derrubada. A matéria verde sofria um processo de pré-secagem para depois ser destilada em alambiques também chamados de pipas. Após um período de 4 a 5 anos de exploração eram retiradas mudas da área depauperada e implantada a cultura em nova área recém desmatada. O manejo de não devolver os resíduos de destilação ao solo, aliado à não reposição dos nutrientes retirados pela planta alimentaram a crença da improdutividade da cultura além do quarto ou quinto ano (CZEPAK *et al.*, 2008).

Com o fim do desmatamento no Estado a produção de menta e de mentol entrou em declínio a partir de 1975. As principais causas foram o surgimento do mentol sintético, mais barato, que reduziu a demanda do mentol natural (WATANABE *et al.*, 2006; DESCHAMPS *et al.*, 2008b). Problemas de ordem sanitária como nematóides (*Meloidogyne javanica*) bolor branco (*Sclerotium rolfsii*), pulgões (*Aphis* sp.) e principalmente a suscetibilidade ao fungo da ferrugem *Puccinia menthae* Pers também contribuíram para a redução da produção (CZEPAK *et al.*, 2008).

O desenvolvimento de novas tecnologias como a irrigação, controle de doenças, insetos e plantas daninhas e a produção de mudas livres de nematóides aliados à nutrição adequada, à devolução da torta residual de destilação e ao uso de

instrumentos mecanizados de colheita pode conduzir à retomada do cultivo de menta, como já vem ocorrendo no oeste do Paraná (CZEPAK *et al.*, 2008). O Estado do Paraná continua sendo o maior produtor de menta, cultura que ocupa o 4º lugar em valor bruto de produção e o 7º lugar em área plantada (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 2004).

### 2.1.1 SISTEMAS DE PRODUÇÃO

A China, Índia e Estados Unidos são os maiores produtores mundiais das diversas espécies do gênero *Mentha*, que são cultivadas em larga escala e conduzidas em sistemas de manejo diferenciados.

Na China a produção abrange todos os tipos de Menta, com produtividade variável entre 75 e 100 kg ha<sup>-1</sup> de óleo essencial. A qualidade de OE é extremamente variável, com tendência à redução de qualidade, principalmente a partir da perda do controle da comercialização pela Empresa Estatal de Comércio, o que vem contribuindo para a redução do preço do OE chinês. A produção é realizada por pequenos e médios produtores, de forma manual, geralmente consorciando com as culturas de cevada, gergelim, fava e olerícolas ou em rotação com arroz, batata-doce e milho. O OE é extraído localmente em baterias de destiladores de porte pequeno ou médio. A propagação é realizada por rizomas ou estolões, usando de 1200 a 1500 kg ha<sup>-1</sup>, a adubação inicial da cultura é fornecida por fontes orgânicas e nas colheitas sequenciais são usados fertilizantes solúveis (LIU & LAWRENCE, 2007).

Nos EUA o OE de menta é obtido com produtividade média de 110 kg ha<sup>-1</sup> em *M. x piperita*, e 90 kg ha<sup>-1</sup> em *M. spicata* e *M. gracilis*. A produção é industrial, mecanizada, em regime de monocultura, irrigada por gotejamento, sulcos ou aspersão, com extração do OE nas áreas de produção em baterias de destiladores de grande porte. Apesar do aumento de produtividade de OE, a produção vem oscilando nos últimos anos, com redução nas áreas de plantio por conta do cultivo energético de milho, migrando para as áreas do sul (ZHELJAZKOV, 2010). Os ciclos da cultura, anteriormente conduzidas por 5 a 10 e até 20 anos, são mantidos agora por 3 a 4 anos, com exceção da *M. spicata* que mantém a produtividade por 5 até 10 anos (MORRIS, 2007).

Na Índia, as espécies de menta sempre foram cultivadas como itens tradicionais na culinária e medicina. O cultivo comercial de menta para extração de OE é recente, iniciou na década de 80, pela implantação de um eficiente e bem articulado programa governamental de pesquisa, extensão e comercialização, que introduziu a *Mentha arvensis* e toda uma tecnologia de manejo que transformou a menta em cultura anual e a Índia no maior produtor mundial de OE de Menta. Nas décadas seguintes, outras espécies de menta foram introduzidas, porém a *M. arvensis* L. continua sendo a principal fonte de produção, com produtividade variando de 100 a 180 kg ha<sup>-1</sup> de OE. Os cultivos são manuais, a rotação de culturas é realizada com arroz, trigo, batata, cana, sorgo, colza, feijão guandu e grão de bico de forma a não comprometer a oferta de alimentos. A destilação é realizada nas propriedades em pequenos e rústicos destiladores, ou em destiladores de grande porte disponibilizados pelo governo e gerenciados em regime cooperativo ou por destiladores particulares que cobram taxas de 10 a 20% do OE (KUMAR *et al.*, 2007; ANWAR *et al.*, 2010). Singh *et al.* (2003) relatam algumas das medidas adotadas pelas instituições de pesquisa e extensão indianas para aumentar a produtividade de óleo essencial em *Mentha arvensis*. Entre elas estão: a transformação do manejo cultural semi-perene usual em sistema de cultivo anual; a substituição da cultivar Shivalik, suscetível a pragas e doenças pelas cultivares Kosi, Himalaya, Kalka e Kushal mais resistentes e produtivas; e a rotação com as culturas de arroz (*Oriza sativa*) e grão de bico (*Cicer arietinum*), feijão guandu (*Cajanus cajan*).

### 2.1.2 PROPAGAÇÃO E DENSIDADE DE PLANTIO

A propagação comercial de menta é assexuada podendo-se usar mudas provenientes de estaquia de caules ou rizomas, também denominados estolões (BIASI & DESCHAMPS, 2009). No Brasil, a propagação mais usada a campo é o uso de estolões. Segundo Paulus *et al.* (2007) e Paulus *et al.* (2011), a propagação por estolões implica em menor pegamento das mudas e em mudas de menor qualidade que resultam em desuniformidade e redução do rendimento. No entanto, a propagação por estaquia de caule, representa um acréscimo adicional de cerca de 30% no custo de produção. Na Índia são usados estolões do último cultivo

conservados sob refrigeração, estolões de campos de matrizes e plântulas de rebrota (KUMAR *et al.*, 2007). Plantios tradicionais usam estolões a 5 cm de profundidade, de forma contínua (ponta com ponta), com espaçamento de 50 cm entrelinhas (PATRA *et al.*, 2000).

Ram & Kumar (1998) demonstraram que a densidade populacional é um fator crítico que condiciona a maximização da produtividade na cultura de menta sendo que densidades de plantio menores aumentam o rendimento de óleo essencial. Os autores constataram que o plantio por transplante de mudas de dois meses provenientes de estolões, com densidade de plantio de 250.000 pl/ha propiciaram maior produtividade de óleo essencial, acima de 130 kg ha<sup>-1</sup>, do que o plantio por estolões. Monteiro (2009) testando vários espaçamentos para *M. campestris* Schur. em Pinhais-PR observou maior produção de biomassa de folhas (2733 kg ha<sup>-1</sup>) maior produtividade de OE (216,3 L ha<sup>-1</sup>) e maior produtividade de mentol (183,5 L ha<sup>-1</sup>) aos 90 dias, usando espaçamento de 0,15 x 0,60m.

### 2.1.3 SOLO E NUTRIÇÃO

A menta tem preferência por solos arenosos, férteis, bem drenados e ricos em matéria orgânica. O pH deve estar entre 6,0 e 7,0. Corrêa Júnior *et al.* (1994), recomendam adubação orgânica na implantação da cultura de 5 kg m<sup>-2</sup> de esterco de curral ou composto orgânico ou 3 kg m<sup>-2</sup> de esterco de aves mais os adubos químicos concentrados. No Brasil, as recomendações de NPK, da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - SBCS (2004) para a cultura da menta estabelecem amplitudes de 80, 50 e 20 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, 120, 80 e 40 kg ha<sup>-1</sup> de fósforo, 90, 60 e 30 kg ha<sup>-1</sup> de potássio para níveis de nutriente no solo baixo, médio e alto, respectivamente. Anwar *et al.* (2010) afirmam que as mentas produtoras de mentol são especialmente extratoras de N, P e K quando comparadas com as outras espécies. O aumento nos teores de N, P e K afetam positivamente a produção de fitomassa e óleo essencial, sem alterar as concentrações de mentol. A maior extração de macronutrientes em *Mentha* foi de N, K e Ca e de micronutrientes Fe, Mn e Zn (GARLET, 2007). O Fe e Mn estão envolvidos em algumas etapas enzimáticas da biossíntese de mentol, podendo sua deficiência ser limitante na produção de mentol.



O nitrogênio é um dos nutrientes mais importantes para o metabolismo vegetal, pois constitui componentes fundamentais como ácidos nucleicos e proteínas, participando direta ou indiretamente de processos bioquímicos contribuindo decisivamente para o crescimento vegetativo. Em menta adubações acima de 200 kg ha<sup>-1</sup> são comuns nos EUA, enquanto que na China e Índia a média é de 75 e 100 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente, em função do uso de adubações orgânicas e da rotação de culturas e/ou consórcios, aumentando a rentabilidade pela redução do custo de produção, com menos impacto ambiental e maior sustentabilidade (LAWRENCE, 2007). Castro (2007) constatou que adubação nitrogenada eleva os níveis de proteínas totais para 'Lavander Mint' e aumenta a atividade da enzima nitrato redutase. A adubação nitrogenada aumentou a produtividade de óleo da variedade 'Lavander mint'. A adubação nitrogenada é fator determinante na maximização da produtividade na cultura de menta. A adubação de 160 Kg ha<sup>-1</sup> de N propiciou maior produtividade de óleo essencial (RAM & KUMAR, 1998). Zheljazkov *et al.* (2010) constataram a necessidade de adubação suplementar com N, após cada colheita para manter a produtividade de óleo essencial.

Sinha & Singh (1984) estudaram os efeitos da deficiência de K, em *Mentha arvensis*, como determinantes no aumento do nitrogênio solúvel, a redução proporcional do N protéico nos tecidos vegetais e o aumento da taxa de respiração, deduzindo sua influência sobre a síntese de proteínas. A redução da área foliar também foi observada em plantas deficientes de potássio, no entanto as células basais dos tricomas glandulares peltados não foram afetadas o que provoca um aumento no teor de OE na planta, porém, a produtividade de OE é reduzida pela diminuição da biomassa total. Garlet (2007) correlacionou a elevação de doses de K com a redução de biomassa, porém aumentando o rendimento de óleo essencial e de mentol.

A importância do íon fosfato no metabolismo das mentas é relatado por Rodrigues *et al.* (2004) como doador energético nas sucessivas reações de fosforilação necessárias à conversão do ácido mevalônico em isopreno a unidade básica de formação de monoterpenos. Aumentos nos teores foliares de P proporcionaram teores de Fe, N, Ca e S superiores, reduzindo os teores de K e Mg, sem afetar os teores de B, Cu, Mn e Zn. Os autores determinaram a ordem de acúmulo de nutrientes na parte aérea correlacionada à máxima produção como sendo N>K>Ca>P>Mg>S>Fe>Mn>B>Zn>Cu. Estes resultados coincidem com as

exigências elementares da rota de biossíntese do mentol descrita por Croteau & Davis (2005), onde a presença do íon Fe juntamente com co-fatores quinona são necessários nas duas reações iniciais envolvendo a fusão de 3 moléculas de Acetil-CoA. A presença dos íons Mg e Mn é requerida nas etapas de formação do isopreno e do limoneno.

## 2. 2 MENTHA: ASPECTOS FITOQUÍMICOS

Óleos essenciais (OE) são compostos químicos provenientes do metabolismo secundário que geralmente apresentam estrutura complexa, baixo peso molecular, marcante atividade biológica sendo encontrados em concentrações relativamente baixas em determinados grupos de plantas e possuem uma característica importante que é a volatilidade de seus constituintes. De acordo com a ISO 3218:1976, óleos essenciais são produtos obtidos de partes de plantas pela destilação por arraste de vapor ou por prensagem dos pericarpos de frutos cítricos (SIMÕES & SPITZER, 2001).

A produção de metabólitos secundários é genético dependente e sua expressão passa por interações entre a planta e as condições ambientais bióticas e abióticas, sendo sintetizados como mecanismos de defesa e de proteção da planta (VALLAD & GOODMAN, 2004; PAVELA, 2004; GOBBO-NETO & LOPES 2007).

A composição do óleo essencial das espécies de *Mentha* e dos seus 11 híbridos revela um enorme polimorfismo químico, assim como uma mesma espécie pode sofrer variações em função das condições ambientais locais, como solo e clima ou até de sazonalidade e estágio de desenvolvimento, caracterizando diferentes quimiotipos (SANGWAN, 2001; LAWRENCE, 2007; GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

A composição do óleo essencial de *Mentha* spp. apresenta variações significativas, podendo ter como constituintes majoritários o mentol, linalol,  $\alpha$ -terpineol,  $\alpha$ -felandren-8-ol, entre outros (KOFIDIS *et al.*, 2004; DESCHAMPS *et al.*, 2008). Os componentes indesejáveis como mentofurano, pulegona e acetato de metila, apesar de minoritários, também sofrem variações importantes e podem comprometer as qualidades organolépticas do óleo essencial e sua conservação (LAWRENCE, 2007; PAULUS *et al.*, 2007).

### 2.2.1 PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL *Mentha* sp.

Em *Mentha* o óleo essencial é produzido e armazenado em tricomas glandulares peltados e capitados que estão distribuídos preferencialmente na face abaxial das folhas, podendo ocorrer também na adaxial com menor densidade (CROTEAU *et al.*, 2005; DESCHAMPS *et al.*, 2006), presentes na superfície das folhas, caules jovens e inflorescências. Estas glândulas de óleo essencial epidérmicas são compostas por oito células secretoras, distribuídas de forma radial, apoiadas sobre uma única célula que também fica sobre outra célula basal incrustada na superfície. As células secretoras são envolvidas por uma bolsa subcuticular que forma uma cavidade onde o óleo secretado é armazenado. Os estudos sobre a distribuição e ontogenia destas estruturas nas folhas de menta esclareceram que a formação de tricomas glandulares é crescente até a total expansão foliar, chegando até 8000 glândulas por folhas (CROTEAU *et al.*, 2005). No entanto, Turner *et al.* (2000) afirmam que com a expansão foliar a densidade dos tricomas diminui em ambas as faces das folhas.

O óleo essencial de menta é composto basicamente por monoterpenos, sintetizados a partir da incorporação de CO<sub>2</sub>, que se acumulam em folhas de 12 a 20 dias de idade, fase de máxima expansão foliar e enchimento das glândulas com óleo essencial. Este acúmulo parece ser mantido, uma vez que não foram comprovadas taxas de “turnover” catabólico, nem perdas por volatilização significativas (GERSHENZON *et al.*, 2000).

Diferentes quimiotípos, condições ambientais de cultivo e estágio de desenvolvimento também alteram os teores dos constituintes ao longo do tempo. Limoneno e mentona são os monoterpenos majoritários presentes em folhas jovens. Ao longo do desenvolvimento das folhas o limoneno decresce e os teores de mentona vão aumentando. Nos estádios foliares finais, em torno de 30 a 35 dias, o mentol aparece como o monoterpeno predominante. Isto acontece quando os primeiros botões florais aparecem, se mantendo ou decaindo ligeiramente durante a floração (GERSHENZON *et al.*, 2000).

Os principais tipos de *Mentha* cultivadas no mundo para a produção de OE são: *Mentha piperita*, denominada “peppermint” com cerca de 75% de uma mistura

de mentol e mentona em proporções que variam de 2:1 a 3:1, respectivamente; *Mentha canadensis*, chamada de “cornmint”, ou menta Japonesa, sendo a melhor fonte de mentol (70%), *Mentha spicata* e *Mentha gracilis* chamadas de “Native and Scotch spearmint”, respectivamente, cujos óleos essenciais contêm cerca de 66 % de carvona; *Mentha pulegium*, chamada de “European pennyroyal” cujo OE consiste em 90% de pulegona (LAWRENCE, 2007).

Após a extração do OE das partes vegetais este é comercializado e em seguida submetido a processos industriais de desdobramento de seus componentes, fornecendo principalmente o mentol cristalizado e óleo desmentolado (CZEPAK, 1995). Segundo Bizzo *et al.* (2009) este óleo desmentolado ainda contém de 35 a 50% de mentol na sua composição. Em menta o teor de OE varia entre 1,0 – 1,5% e deve ter mais que 50% de mentol (CORRÊA JÚNIOR *et al.*, 1994).

A Tabela 1 apresenta as principais espécies de menta, seus usos, rendimento e composição do óleo essencial.

TABELA 1 – Usos, rendimento e constituintes do óleo essencial (O.E.) de espécies importantes de menta.

Espécie de menta	Porcentagem e constituintes do óleo essencial nas folhas	Usos
<i>Mentha aquatica</i>	0,8% de O.E. 40% de mentofurano, 28% de mentol, 22% de acetato de mentila	Aroma em comida e licores, perturbações digestivas e depressão
<i>Mentha arvensis</i>	1,3 a 1,6% de O.E. 70 a 80% de mentol, 10% de mentil-acetato, 8% de mentona	Anti-gripais, drops para tosse, pasta dental, goma de mascar, aroma de tabaco, cosméticos. Ação carminativa, anti-séptica e estimulante em xaropes, pomadas e bálsamos para dores reumáticas e febres. Óleo é usado para dores de garganta, dente, ouvido e como anti-séptico
<i>Mentha citrata</i>	0,5 a 0,8% de O.E. 45 a 50% de linalol, 35 a 40% de acetato de linalila	Indústria de cosméticos. Folhas são misturadas com suco de laranja para fazer conserva.
<i>Mentha longifolia</i>	1,2% de O.E. 50% de óxido de piperitona, 20% de piperitona	Tratamento de náuseas, neuralgia, reumatismo e perturbações gástricas.
<i>Mentha x piperita</i>	0,3 a 1% de O.E. 50 a 55% de mentol, 20% de acetato de mentila, 10% de mentona	Pasta dental, enxaguatório bucal, goma de mascar, bebidas, confeitos. Anti-séptica e carminativa, digestiva e antiespasmódica, para dor de dentes de cabeça, náuseas e câimbras.
<i>Mentha pulegium</i>	1 a 2% de O.E. 85 a 95% de pulegone, 4 a 5% de mentol	Aroma em sabonetes. Pulegona é usada como base para a produção de mentol. Desordens nervosas e repelente de insetos.
<i>Mentha rotundifolia</i>	0,06 a 0,1% de O.E. 51% de óxido de piperitona, 10% de dipenteno, 10% de limoneno, 10% de acetato de diidrocarveol e 15% de carvona.	Aroma de alimentos, confeitaria, propriedades digestivas.
<i>Mentha spicata</i>	0,2 a 0,5% de O.E. 58% de carvona, 8% de limoneno, 10% de dipenteno, 7% de diidrocarveol e 12% de acetato de diidrocarveol.	Alimentos, bebidas, pasta dental, enxaguatório bucal, sabonetes, detergentes, cremes, loções e perfumes, como medicinal como carminativa, anti-espasmódica, para febre e bronquites.

FONTE: Bhat *et al.* (2002).

### 2.2.2 MENTOL

A biossíntese de mentol a partir do metabolismo primário consiste em 8 etapas enzimáticas, que envolvem inicialmente a formação e subsequente ciclização do monoterpeno precursor universal geranyl difosfato ao seu produto olefina “gerador de óleo” (-)-(4S)-limoneno. Na seqüência, sete reações enzimáticas seqüenciais e seus respectivos estereoisômeros intermediários são iniciadas pela hidroxilação no C3 e uma série de quatro transformações redox e uma isomerização no esquema geral de oxidação alifática conjugada à redução, instalando 3 centros quiral no anel de ciclohexano, formando então o (-) mentol (Figura 1). A organização da biossíntese do mentol é complexa na medida em que envolve a compartimentalização das enzimas em 4 estruturas subcelulares (plastídeos, retículo endoplasmático, mitocôndria e citosol) inspirando diversos trabalhos de engenharia genética visando o controle da expressão gênica de etapas específicas (DIEMER *et al.*, 2001; VERONESE *et al.*, 2001; RINGER *et al.*, 2003; CROTEAU *et al.*, 2005; WILDUNG E CROTEAU, 2005).

Um desvio importante na rota biossintética do mentol é a transformação de (+) pulegona em (+) mentofurano catalisada pela enzima mentofurano sintase. O mentofurano é considerado um “metabólito de estresse” e cuja formação é favorecida por fatores ambientais como baixa intensidade luminosa, dias curtos, temperaturas noturnas elevadas e deficiência hídrica podendo-se acumular em níveis altos (15 a 20 %). A supressão desta rota ou de seus agentes causais representa uma das possibilidades de aumentar a produção de mentol.

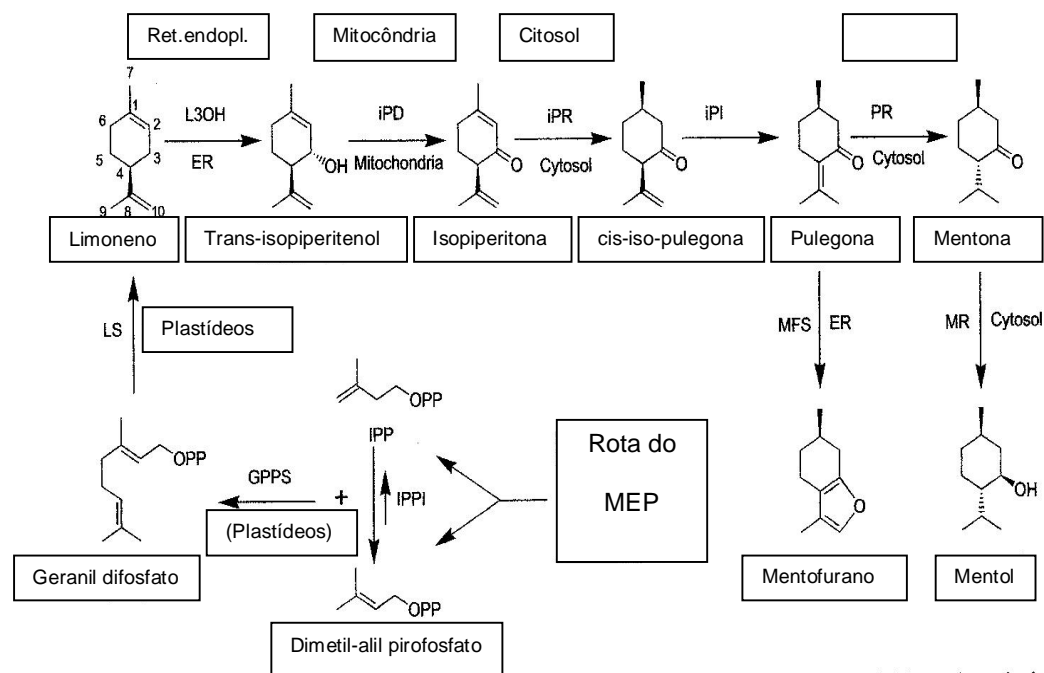


Figura 1. Cadeia de reações de biossíntese do Mentol em *Mentha x piperita*. Fonte: CROTEAU *et al.* (2005)

As propriedades físicas do Mentol são interessantes, apresentando-se na forma cristalina à temperatura ambiente, com ponto de fusão de 41 a 43°C e temperatura de ebulição de 212°C (LAWRENCE, 2007). Em formulações farmacêuticas o mentol é usado para problemas gastrintestinais e respiratórios, resfriados e dores músculo-esqueléticas. No uso dermatológico, contribui com a ação tópica anti-prurido, anti-séptica, analgésica e de refrescância. Esta propriedade de refrescância teve seu mecanismo de eliciação desvendado com a identificação do TRPM8 (transient receptor potential) o qual ativa o canal intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  propiciando a sensação refrescante, também ativada por temperatura baixa (PATEL *et al.*, 2007).

### 2.2.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL

Os métodos de extração de óleos essenciais variam conforme a localização do óleo volátil na planta. O método de “enfleurage” é usado para pétalas de flores (laranjeira e rosas), a prensagem para frutos (cítricos) e o arraste por vapor para plantas frescas. A extração com solventes orgânicos apolares extrai outros

compostos lipofílicos, comprometendo a qualidade do óleo essencial. O óleo volátil mais puro é obtido por CO<sub>2</sub> supercrítico, apesar de frequentemente necessitar de etapas complementares de branqueamento, neutralização e retificação (SIMÕES & SPITZER, 2001).

A destilação por arraste a vapor é uma técnica milenar usada pelos maiores produtores mundiais de óleo essencial que vem sendo aperfeiçoada neste último século, adequando melhorias práticas às exigências físico-químicas do processo, com o objetivo de aumentar sua eficiência (LAWRENCE, 2007). Segundo Watanabe *et al.* (2006) a destilação por arraste de vapor pode ser subdividida em três categorias: destilação com água, com água e vapor e com vapor direto, estando sujeitas às mesmas condições teóricas de hidrodifusão, hidrólise de certos compostos do óleo essencial e decomposição ocasionada pelo vapor. Durante o processo de destilação a água, a acidez e a temperatura podem provocar hidrólise de ésteres, rearranjos, isomerizações, racemizações e oxidações. Isto explica por que a composição dos produtos obtidos por arraste de vapor d'água diferem da mistura dos constituintes inicialmente presentes nos órgãos secretores vegetais (SIMÕES & SPITZER, 2001).

Os destiladores são compostos por quatro unidades: dorna, condensador, separador e sistema gerador de vapor cada um deles mutuamente dependentes, sendo que a alteração da escala de um, requer adequações correspondentes no tamanho dos demais. A enorme diversidade de projetos em operação muitas vezes representa um fator limitante da produção, tanto econômico como em relação à qualidade do óleo essencial (DENNEY & LAWRENCE, 2007). Segundo Simões & Spitzer (2001) a A.F. Bras. IV preconiza o uso de um aparelho tipo Clevenger, com modificações para a extração de OE. Dessa forma, a maioria das referências utiliza o processo de hidrodestilação para avaliar o rendimento de óleos essenciais. Pela sua limitação de escala, freqüentemente esses resultados comprometem as seqüências de adequação à viabilização da produção comercial pela técnica de arraste por vapor em destiladores comerciais.



## 2.3 BIOESTIMULANTES E MODO DE AÇÃO

Bioestimulantes são definidos como materiais orgânicos, aplicados em quantidades reduzidas, que induzem o crescimento e desenvolvimento vegetal, sem que se possa atribuir-lo à aplicação tradicional de nutrientes. Também são chamados de “ativadores metabólicos” e de “reguladores positivos do crescimento vegetal” (CASTRO & VIEIRA, 2001). Os bioestimulantes podem ser classificados em 3 grupos: produtos contendo ácidos húmicos, hormônios ou aminoácidos (VASCONCELOS *et al.*, 2009). Schmidt *et al.* (2003) citam como bioestimulantes o extrato da alga marinha (*Ascophyllum nodosum*), ácidos húmicos e aminoácidos.

A ação dos bioestimulantes se dá de várias formas, como pelo estímulo à eficiência fotossintética e à tolerância de plantas sujeitas a estresses ambientais bióticos e abióticos, tais como déficit hídrico, salinidade, temperaturas elevadas ou muito baixas, elevada intensidade de luz UV, herbicidas e nematóides e ataques de pragas e doenças (VASCONCELOS *et al.*, 2009).

Em situações de estresse elevado, a planta produz elevados níveis de etileno, o que sinaliza a senescência foliar e acúmulo de reservas nutritivas nos pontos de crescimento, sendo reduzida a taxa de fotossíntese, a respiração e os níveis de auxinas e citocininas. Paralelamente, os processos metabólicos de recepção de elétrons pelo oxigênio molecular responsáveis pelos níveis de hidratação em condições favoráveis são reduzidos, aumentando a formação de espécies reativas de oxigênio, como superóxido, oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila. Estes radicais na forma livre são oxidantes, que provocam a quebra de pigmentos, danos às membranas celulares, mitocôndrias e cloroplastos, levando à necrose celular e eventualmente à morte da planta (ZHANG *et al.*, 2003; SCHMIDT *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2004).

A interferência dos bioestimulantes em situações de estresse fisiológico ocorre por meio de duas correntes metabólicas seqüenciais: alteração do balanço hormonal a favor das citocininas e auxinas, com a conseqüente redução dos níveis de etileno, então seguida pela ativação do sistema de defesa antioxidante. Este sistema é formado por um complexo enzimático composto pelas enzimas catalase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase (VASCONCELOS *et al.*, 2009).

Os recentes desafios à produção vegetal devido à crescente ocorrência de estresses abióticos e bióticos criados pelas mudanças climáticas terão grande impacto no século 21. A pesquisa e desenvolvimento de técnicas que minimizem esses estresses devem ser prioritárias. Estudos recentes demonstram que os bioestimulantes oferecem proteção contra condições adversas, assumindo potencial para serem aplicados a campo em concentrações reduzidas com baixo impacto econômico e ambiental (KHAN et al., 2009).

Não foram encontradas referências com relação ao rendimento de óleo essencial em nenhuma espécie de *Mentha* com os três insumos usados neste trabalho: extrato de alga marinha e ácido fúlvico.

### 3.3.1 EXTRATO DE ALGA

Algas macroscópicas e multicelulares são componentes dos ecossistemas marinhos costeiros rochosos de zonas temperadas onde exista substrato adequado. As algas marinhas são classificadas de acordo com a sua pigmentação, sendo as algas marrons do grupo Phaeophyta, o segundo grupo mais numeroso com aproximadamente 2000 espécies, ao qual pertence a alga *Ascophyllum nodosum*, a mais usada na agricultura, como bioestimulante ou biofertilizante. Cerca de 15 milhões de toneladas são usadas na agricultura anualmente, como suplemento em fertilizantes ou como bioestimulante em inúmeras formulações comerciais. O efeito estimulante do crescimento vegetal das algas marinhas e sua composição à base de macro e micronutrientes, aminoácidos, vitaminas, citocininas, auxinas e ácido abscísico, betaínas e esteróis começam a ser reconhecidos e documentados, no entanto, os mecanismos de ação dos componentes permanecem desconhecidos, havendo a hipótese de efeito sinérgico entre eles (KHAN 2009; CRAIGIE, 2010). Produtos à base de algas e extratos de algas marinhas são comercializados para uso como promotor de crescimento e protetor vegetal a estresses abióticos e bióticos, protetor de solo e estimulante de microrganismos da rizosfera, como suplementos alimentares animais e humanos (KHAN 2009; CRAIGIE, 2010).

Quanto a outras espécies aromáticas, Storck (2008) testou o extrato de alga em patchouli (*Pogostemon clabin*) observando elevação no rendimento de óleo essencial com aplicações foliares de apenas 15 mg L<sup>-1</sup>, enquanto Masseto (2009)

trabalhando com lavanda (*Lavandula dentata*) com aplicações foliares de extrato de alga e GA<sub>3</sub> constatou que a alteração no rendimento de óleo essencial está associada aos estádios de desenvolvimento da planta e ao órgão de armazenamento.

### 3.3.2 ÁCIDO FÚLVICO

Os ácidos fúlvicos são um dos componentes das substâncias húmicas, resultantes da decomposição de resíduos vegetais e animais. Ocorrem naturalmente em solos minerais, turfas, xisto betuminoso, compostos orgânicos (animais, vegetais e esgoto) e carvões. A Leonardita (linhito oxidado) é um carvão natural de baixo valor calorífico que apresenta o maior conteúdo de ácidos húmicos, sendo usado desde 1960 na produção vegetal. Todos os ácidos húmicos contém C, H, O e N com concentrações reduzidas de S e P. Os ácidos fúlvicos são substâncias solúveis em qualquer pH, com baixo peso molecular, o que lhes permite a entrada nas plantas, não só pelas raízes como pelos poros foliares e principalmente pelos ectodesmas (SCHMIDT *et al.*, 2003).

Ácidos fúlvicos contêm também polissacarídeos, aminoácidos e auxinas que podem favorecer o crescimento vegetativo e o balanço hormonal a favor das auxinas em situações de estresse, havendo ainda um reforço pela inibição da enzima ácido indol acético - AIA oxidase que parece ocorrer por meio da competição com substrato ou alteração da sua conformação (FAÇANHA *et al.*, 2002; ARANCON *et al.*, 2006a).

Seu elevado conteúdo de grupos carboxílicos (COOH), fenólicos, grupos amino e ligações peptídicas nos ácidos fúlvicos viabilizam sua ação tampão no solo, na medida em que aumentam a CTC, evitando lixiviação, favorecendo a ação intercoloidal dos compostos orgânicos com as argilas, melhorando a estrutura e porosidade e quando absorvidos pelas plantas sua ação quelante permite a condução dos íons Zn, Cu, Mg, Fe (SCHMIDT *et al.*, 2003; ARANCON *et al.*, 2006c; ARANCON *et al.*, 2006a).

A presença de ácidos húmicos no solo e a própria exudação radicular de ácido fúlvico após translocação pela planta, libera compostos como CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-2</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-2</sup> que estimulam o crescimento microbiano simbiote na região da

rizosfera. Fungos como *Trichoderma harzianum* contribuem para a saúde radicular pela proteção contra fungos de solo como *Phytium*, *Phytophthora*, *Fusarium* e *Rhizoctonia* através do controle biológico pelos mecanismos de micoparasitismo, antagonismo e resistência induzida (fitoalexinas), competição por espaço e nutrientes e inativação das enzimas do patógeno. Da mesma forma, bactérias do gênero *Pseudomonas* spp. também se alimentam das substâncias húmicas na rizosfera, promovendo o crescimento vegetal pelos exsudatos contendo auxinas, citocininas e giberelinas (CHAOUI *et al.*, 2003; HAN *et al.*, 2005).

A grande diversidade de origem, do modo de preparo, se reverte na grande variabilidade na composição e nas concentrações do ácido fúlvico e bioestimulantes em geral, o que representa um fator que dificulta a obtenção de resultados mais consistentes e previsíveis, necessitando cada caso de experimentação preliminar a fim de determinar dosagens e frequências de aplicação (VASCONCELOS *et al.*, 2009). Apesar de haver considerável número de referências disponíveis quanto à capacidade do ácido fúlvico estimular o crescimento vegetativo, nenhuma publicação fazendo o seu uso em plantas aromáticas foi localizada.

## REFERÊNCIAS

- AFLATUNI, A. **The yield and essential oil content of mint (*Mentha* spp.) in Northern Ostrobothnia (2005)**. 50 f. 2005. Dissertation (Master) - University of Oulu, Finland, 2005.
- ANWAR, M.; CHAND, S.; AND PATRA, D.D. Effect of graded levels of NPK on fresh herb yield, oil yield and oil composition of six cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis* Linn.). **Indian J. of Nat. Prod. And Resources**. v. 1, p. 74-79, 2010.
- ARANCON, N.Q., C.I. EDWARDS AND P. BIERMAN, Influences of vermicomposts on field strawberries-2: Effects on soil microbiological and chemical properties; **Bioresource Technology**, v. 97, p. 831-840.15. 2006a.
- ARANCON, N.Q.; EDWARDS, C.A.; LEE, S.; BYRNE, R. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth **European Journal of Soil Biology** 42 p.S65–S69, 2006b.
- BHAT, S.; MAHESHWARI, P.; KUMAR, S.; KUMAR, A. *Mentha* species: *In vitro* regeneration and genetic transformation. **Molecular Biology Today**, v. 3, n. 1, p. 11-23, 2002.
- BIASI, L.A.; DESCHAMPS, C. Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial. 1. ed. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009.
- BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C. REZENDE, C.R. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 2009. publicado na web 2/4/2009.
- CASTRO, L. W. P., **Desenvolvimento de *Mentha aquatica* e *Mentha x piperita*, rendimento e qualidade do óleo essencial em reposta a níveis de radiação e adubação nitrogenada**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Produção Vegetal, DFF/ CCA/UFPR. 2007.
- CASTRO, P. R. C. & VIEIRA, E. L. **Aplicação de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba. Agropecuária. 132p. 2001.
- CHAOUI, H.I., L.M. ZIBILSKA AND T. OHNO, Effects of earthworms casts and compost on soil microbial activity and plant nutrient availability. *Soil Biology and Biochemistry*, v.35 n. 2, p. 295-302, 2003.

COLLIN, H.A. Secondary product formation in plant tissue cultures. **Plant growth regulation** 34: 119-134. 2001

CORRÊA JÚNIOR, C.; MING, L.C.; SCHEFFER, M.C. **Cultivo de plantas medicinais condimentares e aromáticas**. Curitiba: EMATER, 1994, 151 p.

CORRÊA JÚNIOR, C.; GRAÇA, L. R.; SCHEFFER, M. C. (Orgs.). Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná: diagnósticos e perspectivas. Curitiba: SPPM, Emater-PR, Embrapa-Florestas, 2004. p. 272.

COSTA, D.P. B.; RODRIGUES V.C.; SILVA J.C.G. MOURÃO R.C.; ABREU J.B. R. Comparação entre a composição mineral de esterco e vermicompostos originários de bubalinos e bovinos. **Livestock Research for Rural Development**. v.17, n.11, 2005.

CRAIGIE J. S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. **J. Applied Phycology**. DOI 10.1007/s10811-010-9560-4 published online 20 July 2010, acessado em: 28/102010.

CROTEAU, R.B.; DAVIS, E.M.; RINGER, K.L.; WILDUNG, M.R. Menthol biosynthesis and molecular genetics **Naturwissenschaften** 92: p.562–577, 2005.

CZEPAK, M. P. Produção de Óleo Bruto e Mentol Cristalizável em Oito Frequências de Colheita da Menta (*Mentha arvensis* L.). In: MING, L.C. (coord.), SCHEFFER, M. C., JÚNIOR CORRÊA, C., BARROS, I. B. I., MATTOS, J. K. A. Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares: Avanços na pesquisa agronômica. v.2. Botucatu: UNESP, 1998. p.53-80.

CZEPAK, M.P.; CORRÊA JÚNIOR, C.; SCHEFFER, M. C.; SCHMIDT, E.R.; ALMEIDA, N.G. Plantas aromáticas na região Sul. Cap V, p. 597 - 624 In: BANDONI, A.L.; CZEPAK, M.P. Os recursos vegetais aromáticos no Brasil: seu aproveitamento industrial para a produção de aromas e sabores. EDUFES, Vitória, ES, 2008.

DENNY, E.F.K.; AND LAWRENCE, B. M. The Distillation of Mint Oils: History, Current Theory, and Practice Chap. 6 p.185 – 216. In: **Mint : the genus mentha** / Brian M. Lawrence. Mints (Plants) I. Title. Taylor & Francis Group, LLC, 547p. 2007.

DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J. L.; ROSWALKA, L.; OLIVEIRA, M. de C.; BIZZO, R.; ALQUINI, Y. Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquatica* L. **Ciência e Natura**, v. 28, n. 1, p. 23-34, 2006.

DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J.L.; BIZZO, H.R.; OLIVEIRA, M.C.AND ROSWALKA, L.C. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em espécies de Menta. **Ciênc. Agrotec.**, v. 32, p. 725-730, 2008a.

DESCHAMPS; C.;MAY-DE-MIO, L.L.; OLIVEIRA, R.A.; MAZARO, S.M.; MACHADO, M.P.; OLIVEIRA, M.C.; GOUVÊA, A. Escala diagramática para avaliação da severidade da ferrugem de *Mentha arvensis* **Rev. Bras. Pl. Medicinais**. Botucatu, v.10, n.1, p.82-87, 2008b.

DIEMER, F.; CAISSARDA, JC.; MOJAA, S.; CHALCHATB, JC.; JULLIENA, F. Altered monoterpene composition in transgenic mint following the introduction of 4S-limonene synthase. **Plant Physiol. Biochem.** v. 39 p. 603–614,2001.

EDWARDS, C.A., ARANCON, N.Q., GREYTAK, S., Effects of Vermciompost Teas on Plant Growth and Diseases. **Biocycle** , p. 28-31. 2006.

FAÇANHA, A. R.; FAÇANHA, A. L. O.; OLIVARES,F. L.; GURIDI, F.;GABRIEL DE ARAÚJO SANTOS, G. A.; VELLOSO,A. C. X.; RUMJANEK,V. M. SCHRIPEMA, J.; BRAZ-FILHO, R.; MARCO ANTÔNIO DE OLIVEIRA, M. A.; CANELLAS, L.P Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1301-1310, 2002.

GARLET, T. M. B. **Produtividade, teor e composição de óleo essencial de *Mentha* L. (Lamiaceae) cultivada em hidroponia sob variação de potássio.** p. 112 (Tese- Doutorado em Agronomia) – Setor de Produção Vegetal. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria. 2007.

GERSHERZON, J.; McCONKEY, M. E.; CROTEAU, R. B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiology**. Madison, v. 122, p. 205-213, 2000.

GOBBO-NETO, L. & LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**. v. 30, n.2, 374-381, 2007.

HAN, J., SUN, L.; DONG,X.; CAI, Z.; YANG, H.; Y. WANG, Y.; SONG, W. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential bio-control agent against various pathogens. **Syst. Applied Microbiology**, 28: 66-76, 2005.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos**. Ed. Agronômica Ceres. São Paulo. 492p. 1985.

KHAN, W., RAYIRATH, U., SUBRAMANIAN, S., JITHESH, M. N., RAYORATH, P., D. HODGES, M., CRITCHLEY, A., CRAIGIE, J. F., NORRIE, J., PRITHIVIRAJ, B. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. Review. **J. Plant Growth Regulation** v.8. p. 386 - 399, 2009.

KOFIDIS, G.; BOSABALIDIS, A.; KOKKINI, S. Seasonal variation of essential oils in a linalool-rich chemotype of *Mentha spicata* grown wild in Greece. **Journal Essential Oil Research**. v.16, p. 469-472, 2004.

KUMAR, S.S.; SHASHI PANDEY-RAI, S.;S.K. RAI, S.K. The Cultivation of Mints in India In: **Mint : the genus *Mentha*** / Brian M. Lawrence. Mints (Plants) I. Title. Taylor & Francis Group, LLC, 2007. p.137-165.

LAWRENCE, B. M. **Mint : the genus *mentha*** / Brian M. Lawrence. Mints (Plants) I. Title. Taylor & Francis Group, LLC, 547p. 2007.

LORENZI, HARRI.; MATOS, F. J. DE A. Plantas Medicinais ni Brasil. Nativas e Exótica. 2. Ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo. 544p. 2008

MASSETO, M. A. M. **Ácido giberélico e extrato de alga marinha na produtividade e composição do óleo essencial de lavanda (*Lavandula dentata* L.)** 95p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

MONTEIRO, R. **Desenvolvimento de *Menta* e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo**. 80 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2009.

MORRIS, M. A. Commercial Mint Species Grown in the United States. In: LAWRENCE, B. M. **Mint: The genus *Mentha***. CRC, Press, Boca Raton FL. 2007. cap. 3, p. 87-136.



PATEL, T.; ISHIUJI, Y.; YOSIPOVITCH, G. Menthol: A refreshing look at this ancient compound. Review. **J. Am. Acad. Dermatol.** V.10, n. 04 p.1-6, 2007.

PAVELA, R. Insecticidal activity of certain medicinal plants. **Fitoterapia.** v. 75, p.745-749. 2004.

PATRA, D.D.; ANWAR, M.; CHAND, S. Integrated nutrient management and waste recycling for restoring soil fertility and productivity in Japanese mint and mustard sequence in Uttar Pradesh, India. **Agriculture, Ecosystems and Environment.** v. 80 p. 267-275. 2000.

PAULUS D; PAULUS E. Efeito de substratos agrícolas na produção de mudas de hortelã propagadas por estaquia. **Horticultura Brasileira,** v. 25: p. 594-597, 2007.

PAULUS, D.; VALMORBIDA, R.; TOFFOLI, E.; PAULUS, E.; GARLET, T.M.B. Avaliação de substratos orgânicos na produção de mudas de hortelã (*Mentha gracilis* R. Br. e *Mentha x villosa* Huds.) **Rev. Bras. Pl. Med.,** Botucatu, v.13, n.1, p.90-97, 2011.

PAVELA, R. Insecticidal activity of certain medicinal plants. **Fitoterapia.** v. 75, p.745 - 749. 2004.

RAM, M.; KUMAR, S. Yield improvement in the regenerated and transplanted mint *Mentha arvensis* by recycling the organic wastes and manures. **Bioresource Technology.** Great Britain, v.59, n.2, p.141-149, 1998.

RINGER, K.L.; MCCONKEY, M.E.; DAVIS, E.M.; RUSHING, G.W.; CROTEAU, R. Monoterpene double-bond reductases of the (–)-menthol biosynthetic pathway: isolation and characterization of cDNAs encoding (–) isopiperitenone reductase and (+)-pulegone reductase of peppermint. **Archives of Biochemistry and Biophysics.** v. 418 p. 80–92. 2003.

RODRIGUES, C.R.; FAQUIN, V.; TREVISAN, D. PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; RODRIGUES, T.M. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira,** Brasília, v.22, n.3, p.573-578, 2004.

RODRÍGUEZ, J.A., E. ZAVALETA, P. SANCHEZ AND H. GONZALEZ, The effect of vermicompost on plant nutrition, yield and incidence of root and crown rot of *Gerbera* (*Gerbera jamesonii* H Bolus), **Fitopathologia.** v. 35, p. 66-79, 2000.

SANGVAN, N. S.; FAROOQI, A. H.A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R.S. Regulation of essential oil in plants. **Plant Growth Regulation**. V. 34, p. 3 -21, 2001.

SCHMIDT, R.E.; ERVIN; E.H.; ZHANG, X.; Questions and answers about biostimulants. In: Research / **GCM**. p. 91-94, 2003.

SHASANY, A.K.; GUPTA S.; GUPTA, M.K.; NAQVI, A.A.; BAHL, J.R. AND KHANUJA, S.P.S. Assessment of menthol mint collection for genetic variability and monoterpeno biosynthetic potential, **Flav. and Frag. J.** v. 25, p. 41–47, 2010.

SILVA JÚNIOR, A.; VIZZOTO, V.J.; GIORGI, E.; MACEDO, S.G.; MARQUES L.F. Plantas medicinais, caracterização e cultivo. Florianópolis: EPAGRI, Boletim Técnico, 68. 1994. 71 p.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES et al (ed.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 3 ed. Porto Alegre/ Florianópolis. Ed. Universidade/ UFRGS/ Ed. UFSC, 2001. Cap. 18, p. 397-425.

SINGH, A.K.; SRIVASTAVA, R. K.; KALRA, A.; BANSAL, R.P.; TOMAR, V. K.S.; BAHL, J. R.; KUMAR, S. New practices in the cultivation of the mint *Mentha arvensis* in the Indo-Gangetic plains. **Expl. Agric.** Vol. 39, p. 199-207, 2003.

SINHA, R.K. Earthworms vermicompost: a powerful crop nutrient over the conventional compost & protective soil conditioner against the destructive chemical fertilizers for food safety and security. **American-Eurasian. Journal. Agriculture & Environmental Science**.v. 5, (S): p. 01-55, 2009.

SOARES, J.P.; SOUZA, J.A.; CAVALHEIRO, E.T.G. Caracterização das amostras comerciais de vermicomposto de esterco bovino e avaliação da influência do pH e do tempo na adsorção de Co (II), Zn (II) e Cu (II). **Química Nova**: São Paulo, v. 27 n.1 p. 5-9, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Rolas)**. 10. ed. Porto Alegre, 400 p. 2004.

STORCK, R. C. **Sombreamento, ácido giberélico e extrato de alga no desenvolvimento e produção de óleos essenciais em Patchouli**. 98p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

TUCKER, A.O. & NACZI, R.F.C. *Mentha*: An overview of its classification and relationship. In LAWRENCE, B. M. **Mint: The genus *Mentha***. CRC Press, Boca Raton FL. 2007. cap. 1, p. 3-41.

TURNER, G. W.; GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. Development of peltate glandular trichomes of peppermint. **Plant Physiology**, v. 124, p. 675-679, 2000.

VALLAD, G. E. & GOODMAN, R.M. Review & Interpretation; Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. **Crop Science**. v.44, p. 1920 -1934, 2004.

VASCONCELOS, A.C.F.; ZHANG, X.; ERVIN; E.H.; KIEHL, J.C. Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. **Sci. Agric. Piracicaba, (Braz.)**, v.66, n.3, p. 395 - 402, 2009.

VERONESE, P., LI, X.; NIU, X.; STEPHEN C.WELLER, S. C.; BRESSAN, R.A.; HASEGAWA, P. Bioengineering mint crop improvement. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** v. 64: p. 133–144, 2001.

WATANABE, C. H.; NOSSE, T. M.; GARCIA, C. A.; PINHEIRO POVL, N. Extração de óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais** v. 8, n.4, p. 76- 86, 2006.

WILDUNG, M. R. & CROTEAU, R.B. Genetic engineering of peppermint for improved essential oil composition and yield. **Transgenic Research**. v.14, p. 365–372, 2005.

WARMAN, P.R.; ANGLOPEZ, M.J. Vermicompost derived from different feedstocks as a plant growth medium. **Bioresource Technology**. v.101n.12, p.4479-83. 2010.

ZHANG, X.; ERVIN, E. H.; SCHMIDT, R. E. Plant growth regulators can enhance the recovery of kentucky bluegrass sod from heat injury. **Crop Science**. v. 43, p. 952 – 956, 2003.

ZHANG, X.; ERVIN, E. H. Cytokinin containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping. **Crop Science** , v. 44, p.1-10, 2004.

ZHELJAZKOV, V.D. et al. Productivity, oil content, and composition of two Spearmint species in Mississippi. **Agronomy Journal**, v. 102, p.129-133, 2010

### 3 SEASONAL VARIATION OF VEGETATIVE GROWTH, ESSENTIAL OIL YIELD AND COMPOSITION OF MENTHOL MINT GENOTYPES AT SOUTHERN BRAZIL

VARIAÇÃO SAZONAL DO CRESCIMENTO VEGETATIVO, PRODUTIVIDADE E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL EM GENÓTIPOS DE MENTA NO LITORAL NORTE CATARINENSE

**SANTOS, V.M.C.S.<sup>1\*</sup>; DESCHAMPS, C.<sup>2</sup>; BIZZO, H.R.<sup>3</sup>; PINTO, A. M. S.<sup>3</sup>;**

<sup>1</sup> Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari, BR-280, Km 26, 89.450-000, Araquari, SC. \*[veramcss@gmail.com](mailto:veramcss@gmail.com)

<sup>2</sup> Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua dos Funcionários, 1540, 80035-050, Curitiba, PR. [cicero@ufpr.br](mailto:cicero@ufpr.br)

<sup>3</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, Avenida das Américas, 29501, 23020-470, Rio de Janeiro, RJ. [bizzo@ctaa.embrapa.br](mailto:bizzo@ctaa.embrapa.br) e [marcoasp@ctaa.embrapa.br](mailto:marcoasp@ctaa.embrapa.br)

**ABSTRACT:** Menthol has economic importance to the flavor, food and pharmaceutical industries. Ten mint genotypes were assessed for essential oil content and chemical composition at the environmental conditions of Southern Brazil after two harvests (February and May). The experimental design was in completely randomized blocks with a 10 x 2 factorial with 4 replications, each one with 20 plants. The essential oil samples were obtained by hydrodistillation in a Clevenger apparatus and analysed by GC-FID and GC-MS. The essential oil content varied from 0.8 to 5.3% and it was higher when plants were harvested in February. The main identified constituents in the essential oil samples were menthol (12 - 92.7%), menthone (2.2 - 56.9%), and neomenthol (2.9 - 12.1%). The levels of menthol and menthyl acetate were superior in May when the levels of menthone and neomenthol decreased. Pulegone, 1,8 cineol and limonene levels were also detected in lower concentrations in some genotypes. *Mentha canadensis* L. showed the highest essential oil content (5.3 % in February and 3.5% in May), as well as the highest menthol concentration (89.6% in February and 92.7% in May) in both harvests. The results showed that the environmental conditions in Southern Brazil are suitable for menthol production and that the harvest in February is superior in terms of essential oil yield, although with a slight decrease in menthol concentration. *M. canadensis* L. can be recommended as a promising genotype for menthol production in Southern Brazil.

**KEYWORD:** Lamiaceae. Mentha. Genetic resources. Biomass. Menthol.

### 3.1 INTRODUCTION

The mint family is composed by different species that are grown worldwide to explore their fresh or dried leaves, as well as their essential oils, as flavoring or spices in a wide variety of food (MORRIS, 2007). India, China and United States are the main mint producer countries. Although Brazil has been the world's leading menthol producer in the early 1970's, it now imports annually approximately US\$ 10 million of mint essential oil (BIZZO et al., 2009). The major monoterpene compound is (-)-menthol, which is important to the pharmaceutical, food and confectionery industries. Peltate glandular trichomes have been identified as the sites of essential oil production and storage in mint (DESCHAMPS et al., 2006; CROTEAU et al., 2005). The eight steps of the menthol biosynthesis pathway and the specific enzymes and gene properties have been described (CHANG et al., 2010; GERSHERZON et al., 2000). The understanding of the regulation of gene expression distributed in four subcellular compartments and the influence of plant ontogeny on oil production have begun to be explained (CHANG et al., 2010; RIOS – ESTEPA et al., 2008; CROTEAU et al., 2005; GERSHERZON et al., 2000). However, the correlation between genotypic acquirements with ecological interactions in physiological plant regulation plays a decisive role in essential oil modulation (GOBBO-NETO & LOPES, 2007; SANGWAN et al., 2001).

The genotypic variability of the genus *Mentha* is favored by cytomixis and consequent polyploidy, transgressive segregation and the ease of hybridization, resulting in significant chemical polymorphism (TUCKER & NACZI, 2007). In addition to genotypic characteristics, it has been demonstrated that genetic expression for oil production is also affected by plant ontogeny and environmental regulation, such as soil and seasonal variations (RIOS-ESTEPA et al., 2008; SANGWAN et al., 2001). Due to the economic importance of menthol, great emphasis has been given to the conservation of mint genetic materials as a valuable bioresource to increase essential oil yield and quality, allowing economic production of mint-related commodities (KHANUJA et al., 2000; FRANZ, 2010).

This work is part of a research program directed to mint production in Brazil which includes germplasm evaluation in different edaphoclimatic conditions throughout the

country. The main objective of this work was to evaluate the vegetative growth, essential oil yield and composition of different mint genotypes at the environmental conditions of Southern Brazil.

### 3.2 MATERIAL AND METHODS

**Plant material and experimental conditions:** Ten mint genotypes were obtained from the germplasm bank of Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, Brazil (Table 1), by vegetative propagation using stem cuttings with 5 to 7 cm in length, Plantmax HT® as substrate, and grown under greenhouse conditions at Federal University of Parana (UFPR), on styrofoam trays with three intermittent mist irrigations during the day. Plants were transferred to field in November 2009, at the Catarinense Federal Institute, Campus Araquari (S 26°23'56", W 48°44'30", 4m), on sandy Espodossolo soil (EMBRAPA, 1999). They were harvested twice, in February (90 days after planting) and May 2010 (180 days after planting). The experimental design was in completely randomized blocks with a 10 x 2 factorial, four replications and sixteen plants each.

**Table 1.** Identification of genotype from mint collection (MC) evaluated in this study

GENOTYPE	DENOMINATION	CIENTIFIC NAME	ORIGIN
<sup>1</sup> MC 3	Chocolate mint	<i>Mentha x piperita</i> L.	Purdue University - USA
MC 23	Pepermint	<i>Mentha x piperita</i> L.	Purdue University - USA
MC 34	EMATER 2	<i>Mentha sylvestris</i> L.	<sup>2</sup> UnB - Brazil
MC 37	EMATER 3	<i>Mentha canadensis</i> L.	UnB - Brazil
MC 43	Hortelã 560	<i>Mentha x piperita</i> L.	<sup>3</sup> CPQBA - Brazil
MC 57	IAC 9	<i>Mentha</i> sp.	<sup>4</sup> IAC - Brazil
MC 69	UFC 5	<i>Mentha x piperita</i> L.	<sup>5</sup> UFC - Brazil
MC 75	Hortelã – PR1	<i>Mentha arvensis</i> L.	<sup>6</sup> PR 1 Brazil
MC 76	Hortelã – PR2	<i>Mentha arvensis</i> L.	PR 2 Brazil
MC 78	Hortelã – PR3	<i>Mentha arvensis</i> L.	PR 3- Brazil

<sup>1</sup> = Mint collection from Embrapa Genetic Resources and Biotechnology. <sup>2</sup>UnB = Universidade de Brasília; <sup>3</sup>CPQBA/UNICAMP = Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrárias/Universidade de Campinas; <sup>4</sup>IAC = Instituto Agrônomo de Campinas; <sup>5</sup>UFC = Universidade Federal do Ceará; <sup>6</sup>PR = Comercial Cultivation in Paraná.

Before transferring the plants to the field, the experimental area was fertilized with 40 kg/ha of nitrogen, 30 kg/ha of phosphorus and 30 kg/ha of potassium, with two additional nitrogen fertilization (20 kg/ha) 30 days after planting and after the first harvest. Plants were spaced by 60 cm between rows and 30 cm between each other. The total area of the experimental unit was 4.2 m<sup>2</sup> and the samples were collected from 0.72 m<sup>2</sup> of this area. Plant height, fresh and dry weights were determined. The samples for biomass evaluation were dried at 65°C in a FANEN (São Paulo, Brazil) model 320SE circulation oven until constant weight. The essential oil was obtained by hydrodistillation of 100 g of fresh leaves in a Clevenger apparatus for 2 hours. Essential oil yield was calculated using the product of biomass multiplied by the oil content value.

**Chemicals:** Dichloromethane spectroscopic grade (Tedia, Fairfield, USA) was used as solvent. The standards were purchased from Aldrich (Milwaukee, USA).

**Analysis of the essential oils:** EO were analyzed in an Agilent (Palo Alto, USA) 6890N gas chromatograph fitted with a 5% phenyl - 95% methylsilicone (HP5, 25m X 0.32mm X 0.25µm) fused silica capillary column. The oven temperature was programmed from 60°C to 240°C at 3°C/min, and hydrogen was used as carrier gas (1.5 mL/min). The oils were diluted to 1% in dichloromethane and 1.0µL of this solution was injected in split mode (1:100). The injector was kept at 250°C and the detector (FID) at 280°C.

Mass spectra were obtained in an Agilent 5973N system operating in electronic ionization mode (EI) at 70 eV, with scan mass range of 40-500 *m/z*. The sampling rate was 3.15 scans/s. The ion source was kept at 230°C, mass analyzer at 150°C and transfer line at 260°C. The mass detector was coupled to an Agilent 6890 gas chromatograph fitted with a low bleeding 5% phenyl - 95% methylsilicone (HP-5MS, 30m X 0.25mm X 0.25µm) fused silica capillary column. The injection procedure and oven temperature program were the same as above. Helium was the carrier gas, at 1.0 mL/min. Linear retention indices (LRI) were measured (DOOL & KRATZ, 1963) by injecting a series of n-alkanes (C<sub>7</sub>-C<sub>26</sub>) in the same column and conditions indicated above for GC analyses.

Identification of the oil components was based on a computer search using the Wiley 6th ed. library of mass spectral data and by comparison of their calculated

linear retention indices with data from the literature (ADAMS, 2007). Standard solutions of menthol and menthone were injected for confirmation.

**Statistical Analysis:** For each genotype and harvest time the average oil content and the percentage of the identified compounds were calculated using the average mean of the four blocks of replications. MSTAT-C (NISSEN, 1993) was used to verify mean homogeneity with a Barlett Test and data was analyzed using the analysis of variance (ANOVA) of the factorial design by the randomization method. The main plot treatments were the ten genotypes and the subplots consisted of the two harvest times. A Tukey honestly significance difference test at  $p < 0.05$  compared means of biomass yield, oil content and yield as well as the percentage of the identified constituents.

### 3.3 RESULTS AND DISCUSSION

The *M. arvensis* (MC 75, MC 76 and MC 78) genotypes exhibited the highest plant height (64.17 to 64.83 cm - Table 2) and were in conformity with those previously described for the same genotypes cultivated in Brasilia conditions. For *M. x piperita* (MC 3 and MC 23), however, cultivation in Santa Catarina lead to higher plant heights (28.3 and 21.9cm), when compared to those from Brasilia (18.3 and 15.6 cm), respectively (GRIZI et al., 2006). *M. canadensis* (MC 37) in this study presented lower plant height than the cultivars Cornmint and Sakhalin mint studied in Finland (AFLATUNI, 2005).

The leaf and herb dry yield were affected by both genotypes and harvest time (Table 2). Plants harvested in February showed higher vegetative growth than those harvested in May despite the fact that the vegetation period was very similar (95 and 90 days). The environmental conditions, as temperature and precipitation, probably affected the vegetative growth. In February, the average temperature was 6.9°C higher with a long-day photoperiod of 14 hours, increasing carbon assimilation and biomass production. In addition, precipitation rates lower than 60 mm in April and May could also have limited plant growth in the second harvest. Similar results have been reported for mint species in Curitiba, Brazil, with superior biomass production in summer than autumn (MONTEIRO, 2009; DESCHAMPS et al., 2008). The average of umidity content on fresh herb was 80% on the first harvest (february) and 81% on the second harvest (may).



**Table 2.** Plant height, dry leaf yield and total dry yield (herb yield) of mint species at two harvesting times at Araquari, Santa Catarina, 2009.

Mint genotypes	Height (cm)	Leaf dry yield kg/ha			Total dry yield (herb yield) kg/ha		
		Feb	May	Total	Feb	May	Total
MC 3	28.25	2163 <b>Aab</b>	585 <b>Bab</b>	2748 <b>a</b>	2905 <b>Aab</b>	1119 <b>Bab</b>	4024 <b>b</b>
MC 23	21.92	1177 <b>Ac</b>	257 <b>Bb</b>	1434 <b>c</b>	1566 <b>Ac</b>	475 <b>Bb</b>	2041 <b>d</b>
MC 34	28.83	1532 <b>Aabc</b>	548 <b>Bab</b>	2080 <b>b</b>	2128 <b>Abc</b>	967 <b>Bab</b>	3095 <b>c</b>
MC 37	38.50	1829 <b>Aabc</b>	1219 <b>Ba</b>	3048 <b>a</b>	2395 <b>Abc</b>	1867 <b>Ba</b>	4262 <b>b</b>
MC 43	28.08	1749 <b>Aabc</b>	286 <b>Bb</b>	2035 <b>b</b>	2374 <b>Abc</b>	549 <b>Bb</b>	2923 <b>c</b>
MC 57	27.92	1632 <b>Aabc</b>	692 <b>Bab</b>	2324 <b>b</b>	2198 <b>Abc</b>	1673 <b>Bab</b>	3871 <b>bc</b>
MC 69	19.25	1463 <b>Aabc</b>	512 <b>Bab</b>	1975 <b>b</b>	1929 <b>Abc</b>	984 <b>Bab</b>	2913 <b>c</b>
MC 75	64.25	2261 <b>Aa</b>	972 <b>Bab</b>	3233 <b>a</b>	3735 <b>Aa</b>	2161 <b>Ba</b>	5896 <b>a</b>
MC 76	64.83	1656 <b>Aabc</b>	1306 <b>Ba</b>	2962 <b>a</b>	2657 <b>Aabc</b>	1810 <b>Ba</b>	4467 <b>b</b>
MC 78	64.17	1736 <b>Aabc</b>	1243 <b>Ba</b>	2979 <b>a</b>	2690 <b>Aabc</b>	2053 <b>Ba</b>	4743 <b>b</b>
<b>Average</b>		1720	762		2458	1366	

Leaf dry yield CV(coefficient variation) =29.82%. Total dry yield CV= 26.33%.

Means followed by the same capital letters on lines and the same lowercase letters on columns are not significantly different at the 0.05 level.

Highest total herb and leaf yield were observed in *M. arvensis* (MC 75, MC 76, MC 78), *M. canadensis* (MC 37) and *Mentha x piperita* (MC 3) genotypes. The *M. arvensis* genotypes and *M. canadensis* (MC 37) were harvested at full bloom, when plant structure is commonly changed due to leaf senescence. This did not occur with *M. canadensis*, as demonstrated by the leaf-herb ratios (Table 3). In spite of the leaf senescence, the essential oil yield was not reduced due to the total herb yield, justifying harvesting at full bloom (ROHLOFF et al., 2005). *M.x piperita* MC 69 and MC 23 in turn exhibited the lowest herb and leaf yield due to its dwarf characteristics and prostrate growth, evidenced by the plant height and the leaf-herb ratio. Although *M. arvensis* (MC 75, MC 76, MC 78) cultivars achieved the highest values of dry herb yield in this study, they are significantly lower than those obtained commercially in India, which ranged from 5.14 to 8.25 t/ha (SRIVASTAVA et al., 2002).

**Table 3.** The leaf/herb ratio of mint species at two harvests at Araquari, Santa Catarina, 2009.

Mint genotypes	Dry leaf / dry herb		
	Feb	May	Average
MC 3	0,73 <sup>Aa</sup>	0,50 <sup>Bab</sup>	0,62 <sup>ab</sup>
MC 23	0,74 <sup>Aa</sup>	0,56 <sup>Bab</sup>	0,65 <sup>ab</sup>
MC 34	0,72 <sup>Aa</sup>	0,59 <sup>Bab</sup>	0,65 <sup>ab</sup>
MC 37	0,76 <sup>Aa</sup>	0,66 <sup>Ba</sup>	0,71 <sup>a</sup>
MC 43	0,73 <sup>Aa</sup>	0,49 <sup>Bab</sup>	0,61 <sup>ab</sup>
MC 57	0,75 <sup>Aa</sup>	0,42 <sup>Bb</sup>	0,58 <sup>b</sup>
MC 69	0,74 <sup>Aa</sup>	0,51 <sup>Bab</sup>	0,63 <sup>ab</sup>
MC 75	0,60 <sup>Aa</sup>	0,54 <sup>Bab</sup>	0,57 <sup>b</sup>
MC 76	0,63 <sup>Aa</sup>	0,59 <sup>Bab</sup>	0,61 <sup>ab</sup>
MC 78	0,63 <sup>Aa</sup>	0,60 <sup>Bab</sup>	0,61 <sup>ab</sup>
<b>Average</b>	0,70	0,55	

Dry leaf / dry herb CV=13.89%. Means followed by the same capital letters on lines and the same lowercase letters on columns are not significantly different at the 0.05 level.

Significant differences were observed in essential oil content among harvest times and genotypes (Table 4). The genotypes presented essential oil contents ranging from 0.8 to 5.3%. The essential oil content was higher in February (2.7%) than in May (1.5%). Summer environmental conditions (February), such as high temperature and long days favored essential oil biosynthesis. This can be explained by the increase in biomass associated to plant modulation of photosynthetic carbon production into the metabolic machinery of monoterpene biosynthesis (KHANUJA et al., 2000). Similar results have been reported at high altitude conditions in southern Brazil, where a 50% decrease in essential oil content among seven mint genotypes was observed when plants were harvest in winter compared to summer (DESCHAMPS et al., 2008). In the northern hemisphere, *M. spicata* also presented higher essential oil during the summer months from July to September (13). Study on photoperiodic influence in mint have correlated long days to flowering induction (SANGWAN et al., 2001). In fact, in February, all of the mint genotypes were at bloom stage, while in May only the *M. arvensis* and *M. canadensis* had attained the stage of bud formation. Besides environmental conditions, senescence of older

leaves in February due to flowering induced a reduction of leaf area, with greater oil gland density on the new leaves resulting in higher oil accumulation.

**Table 4.** Essential oil content (%) and essential oil yield (L/ha) of mint genotypes at two harvests time, at Araquari, Santa Catarina, 2009.

Mint genotypes	Essential oil content (%)		Essential oil yield (L/ha)			
	Feb	May	Feb	May	Average	Total
MC 3	2.8 <b>Abc</b>	1.2 <b>Bbc</b>	81.9 <b>Ab</b>	13.9 <b>Bbc</b>	47.6 <b>b</b>	95.1
MC 23	2.1 <b>Abcd</b>	1.3 <b>Bbc</b>	31.8 <b>Ade</b>	5.8 <b>Bc</b>	18.8 <b>c</b>	37.6
MC 34	2.5 <b>Abc</b>	1.4 <b>Bc</b>	51.5 <b>Acd</b>	12.0 <b>Bbc</b>	31.8 <b>bc</b>	63.5
MC 37	5.3 <b>Aa</b>	3.5 <b>Ba</b>	125.8 <b>Aa</b>	61.1 <b>Ba</b>	93.45 <b>a</b>	186.9
MC 43	2.9 <b>Abc</b>	2.2 <b>Bab</b>	67.4 <b>Abc</b>	11.4 <b>Bbc</b>	39.4 <b>bc</b>	78.8
MC 57	3.4 <b>Ab</b>	0.8 <b>Bc</b>	72.9 <b>Abc</b>	14.8 <b>Bbc</b>	43.8 <b>bc</b>	87.7
MC 69	1.6 <b>Acd</b>	0.9 <b>Bc</b>	27.6 <b>Ae</b>	8.1 <b>Bc</b>	17.8 <b>c</b>	35.7
MC 75	2.1 <b>Abc</b>	1.2 <b>Bc</b>	81.9 <b>Ab</b>	23.3 <b>Bbc</b>	52.6 <b>bc</b>	105.2
MC 76	2.2 <b>Abc</b>	1.5 <b>Bbc</b>	56.8 <b>Ac</b>	33.6 <b>Bb</b>	45.6 <b>b</b>	90.4
MC 78	2.2 <b>Abc</b>	1.4 <b>Bbc</b>	57.4 <b>Ac</b>	28.1 <b>Bbc</b>	42.8 <b>bc</b>	85.4
<b>Average</b>	2.7	1.5	65.4	21.2		

Essential oil content CV= 25.33%. Essential oil yield CV=23.13%. Means followed by the same capital letters on lines and the same lowercase letters on columns are not significantly different at the 0.05 level.

*Mentha canadensis* L. (MC 37), presented the highest essential oil content in both harvests (5.3 % in February and 3.5% in May). When studied in Curitiba, at 940 m altitude Brazil, this genotype had lower oil content (2.8%) (MONTEIRO, 2009). The effect of the altitude and respective higher UV radiation in secondary metabolites is described for *M. x piperita*, increasing oil content from UV-A radiation during the day, while at night a decrease was observed (MAFFEI et al., 1999), which may indicate that essential oil biosynthesis can be negatively affected by the altitude and consequent higher UV exposure. Two *M. canadensis* evaluated in Finland (AFLATUNI, 2005) achieved essential oil content ranging from 1.7 to 2.8% and two other *M. canadensis* studied in Brasilia, Brazil, presented 2.03 and 4.17% of oil content during the dry season (GRACINDO et al., 2006).

The Indian reports on essential oil and menthol yield for *M. arvensis* are highly superior to the values obtained here. Srivastava et al. (2002) describe oil yields of 99.5 to 165 kg/ha and menthol yields of 72.5 to 101 kg/ha. However, their oil content levels ranged from 0.7 to 0.9 and menthol content from 66.7 to 76% which are lower

than those found in this study. Therefore, the component responsible for the limitation of oil and menthol yield here was the herb yield, which was two to three times lower than in India.

**Table 5.** Menthol yield (L/ha) of mint genotypes at two harvesting time at Araquari, Santa Catarina, 2009.

Genotype	Denomination	Feb	May	Average	Total
MC 3	<i>Mentha x piperita</i> L.	32.8 <b>Acde</b>	9.3 <b>Bcd</b>	21.1 <b>cd</b>	42.1
MC 23	<i>Mentha x piperita</i> L.	12.7 <b>Ag</b>	3.3 <b>Bd</b>	7.9 <b>e</b>	16.0
MC 34	<i>Mentha sylvestris</i> L.	24.5 <b>Aef</b>	5.6 <b>Bd</b>	15.1 <b>de</b>	30.1
MC 37	<i>M. canadensis</i> L.	110.2 <b>Aa</b>	56.6 <b>Ba</b>	83.4 <b>a</b>	166.8
MC 43	<i>Mentha piperita</i> L.	28.7 <b>Ade</b>	5.5 <b>Bd</b>	17.1 <b>de</b>	34.2
MC 57	<i>Mentha</i> sp.	8.7 <b>Ag</b>	5.5 <b>Bd</b>	7.6 <b>e</b>	14.2
MC 69	<i>Mentha x piperita</i> L.	13.9 <b>Afg</b>	4.2 <b>Bd</b>	9.1 <b>e</b>	18.1
MC 75	<i>Mentha arvensis</i> L.	62.2 <b>Ab</b>	17.9 <b>Bbc</b>	46.1 <b>b</b>	80.1
MC 76	<i>Mentha arvensis</i> L.	40.5 <b>Ac</b>	25.1 <b>Bb</b>	32.8 <b>b</b>	65.6
MC 78	<i>Mentha arvensis</i> L.	38.8 <b>Acd</b>	20.1 <b>Bbc</b>	29.5 <b>bc</b>	58.9
Average		37.3 <b>A</b>	15.3 <b>B</b>		

Menthol yield CV= 19.89%. Means followed by the same capital letters on lines and the same lowercase letters on columns are not significantly different at the 0.05 level.

Essential oil (Table 4) and menthol yield (Table 5) data were also influenced by genotype and harvest time. For the material harvested in February, both yields are increased. *M. canadensis* (MC 37) presented the highest oil and menthol yield values. The reports of Monteiro (2009) with the same cultivar were higher for oil (149.4 L/ha) and menthol (126.7 L/ha) yield, although oil content (2,7%) and menthol content (85.6%) were lower. This means that the difference was a consequence of a higher herb yield. In Finland, Cornmint and Sakhalin mint, both *M. canadensis* L, achieved oil yields ranging from 10 to 51 Kg/ha at three different harvest times. In this case, lower oil content and herb yield limited the values of oil yield (AFLATUNI, 2005). *Mentha x piperita* L. (MC 3) and *Mentha* sp. (MC 57) showed potential for essential oil production, however, their menthol yield was low.

The main components identified in the essential oil are presented in Table 6. The highest menthol contents were obtained at the second harvest (May) for all genotypes, except *M. sylvestris* (MC 34), while its direct precursor, menthone and the isomer neomenthol were lower. In contrast, characteristics of essential oil in February

can be described as “immature” with lower menthol and higher menthone levels (WILDUNG & CROTEAU, 2005).

**Table 6.** Qualitative and quantitative composition of the essential oil from ten mint genotypes at two harvests at Araquari, Santa Catarina, 2009.

Genotype	February						
	Menthol	Menthone	Neomenthol	Menthyl Acetate	Pulegone	1,8 cineol	Limonene
MC 3	40.4 d	35.9 b	9.0 ab	1.44 b	2.80 c	4.20 a	0.46 bcd
MC 23	39.7 d	32.9 bc	12.0 a	1.82 b	-	4.22 a	-
MC 34	47.6 d	26.5 c	8.9 ab	1.57 b	4.97 b	3.58 a	-
MC 37	89.6 a	2.6 e	3.0 c	-	-	-	0.51 abcd
MC 43	42.6 d	29.9 bc	10.9 ab	1.52 b	3.39 bc	3.80 a	0.50 abcd
MC 57	12.0 e	56.8 a	8.6 ab	1.75 b	14.01 a	3.64 a	0.11 d
MC 69	50.5 cd	13.0 d	8.4 bc	9.92 a	2.51 c	1.95 a	0.85 abc
MC 75	75.9 ab	10.4 de	6.4 bc	3.47 b	-	-	0.24 cd
MC 76	71.2 b	16.2 d	7.2 abc	2.35 b	-	-	0.63 abc
MC 78	67.6 bc	17.1 d	8.9 ab	3.07 b	-	-	0.94 ab
Genotype	May						
	Menthol	Menthone	Neomenthol	Menthyl Acetate	Pulegone	1,8 cineol	Limonene
MC 3	66.93 bcd	15.36 b	5.57 b	1.95 e	0.30 c	3.28 a	1.15 a
MC 23	57.53 cde	14.80 bc	3.30 b	10.35 bc	-	1.20 a	-
MC 34	46.70 ef	10.73 bcd	6.03 ab	10.93 b	4.04 a	2.40 a	-
MC 37	92.69 a	2.20 e	2.95 b	-	-	-	0.31 bc
MC 43	48.44 ef	11.56 bcd	10.41 a	9.80 bc	3.59 a	2.69 a	0.92 ab
MC 57	37.33 f	26.00 a	4.57 b	4.70 de	5.84 a	2.34 a	0.09 c
MC 69	51.78 ef	3.63 de	5.89 ab	25.92 a	1.28 b	1.90 a	1.13 ab
MC 75	76.76 ab	4.98 de	6.86 ab	9.07bcd	-	-	0.60 ab
MC 76	74.59 bc	6.69 cd	7.23 ab	5.76 cd	-	-	0.36 bc
MC 78	71.93 bc	6.30 cde	7.09 ab	9.50 bc	-	-	0.62 ab
CV%	13.88	20.95	25.81	15.43	13.60	18.39	24.75

Means followed by the same letters on columns are not significantly different at the 0.05 level for Tukey test.

The enzyme menthone-reductase is responsible for converting menthone into menthol (CROTEAU et al., 2005). This enzymatic reaction occurs during the late leaf development (15-55 days) while high menthone content is typical at the early stages of leaf development (RIOS – ESTEPA et al., 2008; WILDUNG & CROTEAU, 2005). This might explain the inverse relationship between menthol/menthone results since at the February harvest a significant senescence of the older leaves occurred with

concomitant flowering, reducing the ratio of old (mature) to young (immature) leaves (data not presented). Low menthol content with high menthone and neomenthol observed in February, has been reported as a result of increased photoperiodic influence of long day in *M. arvensis* (SANGWAN et al., 2001). Menthyl acetate is described as an undesirable compound because it promotes changes in organoleptic properties and oil oxidation (PAULUS et al., 2007). This compound is also used as a commercial indicator of an “over mature” oil (WILDUNG & CROTEAU, 2005). This second stage of oil maturation occurs at late bloom increasing the menthol and menthyl acetate levels as occurred during the the harvest of May (RIOS – ESTEPA et al., 2008; ROHLOFF et al., 2005). The higher menthyl acetate contents in May might suggest that an earlier harvest can decrease the level of menthyl acetate and improve oil quality. *Mentha x piperita* L. (MC 69) presented the higher levels of menthyl acetate at both harvests.

Low contents of pulegone and 1,8-cineol were observed in the essential oil of *M. x piperita* genotypes and these compounds were absent in *M. canadensis* and *M. arvensis* genotypes. Pulegone along with menthofuran (not present) are produced and accumulated according to the level of environmental stress (WILDUNG & CROTEAU, 2005). Therefore and in addition to the obtained herb yield values it is reasonable to presume that the *M. canadensis* and *M. arvensis* genotypes exhibited good adaptation to local environmental conditions.

Limonene, an earlier precursor of the menthol biosynthesis pathway appears in low levels (approximately 1%) probably due to the plants ontogenic stage at harvest time (RIOS – ESTEPA et al., 2008). Other constituents identified at amounts lower than 0.3% in oil analysis were: isomenthol, isopulegone, isomenthone, linalool,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, sabinene, mircene, piperitone, 3-octanol, (*E*)-caryophyllene,  $\beta$ -germacrene and bicyclogermacrene.

The genotype *M. canadensis* (MC 37) showed the highest menthol content at both harvests (89.6 and 92.7%). The results were higher than those reported by Monteiro (2009) with the same genotype (85.6%) in Curitiba, Brazil and also higher than the 18 genotypes of the mint collection studied in India by Shasany et al. (2010) when the highest menthol content was 83.8%. At Brasilia, Brazil another *M. canadensis* (MC 20) was characterized with 65% of menthol (GRACINDO et al., 2006). These data

express the potential of this *M. canadensis* genotype for menthol production under the local conditions.

The result of menthol content of the *M. arvensis* (MC 75, 76 and 78) genotypes was also high. These values are consistent with that reported by Srivastava et al. (2002) for three cultivars at ten locations, varying from 66.7% to 76%, of menthol content but were lower than that described by Anwar et al. (2010) ranging from 77.6 to 82.4 on six cultivars, in India.

Gracindo et al. (2006) also studied the oil composition of *Mentha x piperita* L. (MC 3 and MC 23) in Brasilia, and found that the levels of menthol varied from 38.0 to 43.0%, menthone from 11.4 to 20.6% and neomenthol from 1.9 to 4.7%, respectively. In contrast, they also detected 16.2% of carvone in MC 3 and 1.0% of limonene in MC 23, which were not detected in this work.

### 3.4 CONCLUSION

From the results it can be stated that the environmental conditions in Southern Brazil are viable for menthol production, with two harvests. The summer harvest (February) favored oil yield, although with a slight decrease in menthol content. *M. canadensis* (MC 37) genotype can be recommended for local menthol production. The challenge of achieving higher essential oil and menthol yields depends on strategies to increase herb yield by developing innovative agronomic practices.

**RESUMO:** O mentol, constituinte majoritário do óleo essencial de menta é usado nas indústrias farmacêutica, alimentícia e de aromas. Onze genótipos de *Mentha* sp. foram estudados em relação ao desenvolvimento vegetativo, rendimento, produtividade e composição de óleo essencial nas condições edafoclimáticas do litoral Norte Catarinense, em duas épocas (fevereiro e maio). O trabalho foi conduzido em delineamento experimental de blocos ao acaso, em esquema fatorial 10 x 2 para genótipos e épocas de colheita. A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger. O teor de óleo essencial variou entre 0,8 e 5,3%, sendo maior em fevereiro para todos os genótipos. Os constituintes majoritários identificados foram mentol (12 – 92,7%), mentona (2,2 – 56,9%), e neomentol (2,9 – 12,1). Os maiores teores de mentol e acetato de metila foram observados em maio, com baixos teores de mentona e

neomentol, os quais foram superiores em fevereiro. Pulegona, 1,8 cineol, e limoneno foram identificados em menores concentrações. *Mentha canadensis* L. apresentou os maiores teores de óleo essencial, (5,3 % - Fevereiro e 3,5% - Maio) e mentol (89,6% - Fevereiro, 92,7% - Maio) em ambas as colheitas. Os resultados obtidos permitem concluir que este genótipo demonstrou maior capacidade de adaptação no litoral Norte Catarinense, podendo ser recomendado para a produção de mentol.

**PALAVRAS CHAVE:** Lamiaceae. Hortelã. Recursos genéticos. Biomassa. Mentol.

### **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors acknowledge Dr. Roberto F. Vieira and Dr. Djalma B. Silva, from Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, for providing the plant material for the experiment.



## REFERENCES

- ADAMS, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4<sup>th</sup> ed. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL. 2007.
- AFLATUNI, A. The yield and essential oil content of mint (*Mentha ssp.*) in Northern Ostrobothnia. 50 f. 2005. Dissertation (Master) - University of Oulu, Finland, 2005.
- ANWAR, M.; CHAND, S.; AND PATRA, D.D. Effect of graded levels of NPK on fresh herb yield, oil yield and oil composition of six cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis* Linn.). **Indian J. of Nat. Prod. And Resources**. v. 1, p. 74-79, 2010.
- BIZZO, H.R.; HOVELL A.M.C.; AND REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quím. Nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.
- CHANG, T.H.; HSIEH, F.L.; KO, T.P.; TENG, K.H.; LIANG, P.H.; WANG, A.H.-J. Structure of a Heterotetrameric Geranyl Pyrophosphate Synthase from Mint (*Mentha piperita*) Reveals Intersubunit Regulation. **The Plant Cell**, v. 22, p. 454-467, 2010.
- GERSHERZON, J.; McCONKEY, M. E.; CROTEAU, R.B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiol.**, v. 122, p. 205-213, 2000.
- CROTEAU, R.B.; DAVIS, E.M.; RINGER K.L. AND WILDUNG, M.R. Menthol biosynthesis and molecular genetics. **Naturwissenschaften**. v. 92, p. 562-577, 2005.
- DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J. L.; ROSWALKA, L.; OLIVEIRA, M. de C.; BIZZO, R.; ALQUINI, Y. Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquatica* L. **Ciência e Natura**, v. 28, n. 1, p. 23-34, 2006.
- DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J.L.; BIZZO, H.R.; OLIVEIRA, M.C. AND ROSWALKA, L.C. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em espécies de Menta. **Ciênc. Agrotec.**, v. 32, p. 725-730, 2008.
- DOOL, H.V.D AND KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J. Chromatogr.**, v.11, p.463-471, 1963.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Sistema Brasileiro de Classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de Informação, 1999.

FRANZ, C. Essential oil research: past, present and future. **Flavour Fragr. J.**, v. 25, p. 112-113, 2010.

GRACINDO, L.A.M.B.; GRIZI, M.C.M.; SILVA, D.B.; ALVES, R.B.N.; BIZZO, H.R. AND VIEIRA, R.F. Chemical characterization of mint (*Mentha spp.*) germoplasm at Federal District, Brazil. **Rev. Bras. Pls. Med.**, v. 8, p. 5-9, 2006.

GRIZI, M.C.M.; SILVA, D.B.; ALVES, R.B.N.; GRACINDO, L.A.M.B. AND VIEIRA, R.F. Avaliação de genótipos de Menta (*Mentha spp.*) nas condições do Distrito Federal, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 8, p. 33-39, 2006.

GOBBO-NETO, L. LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

KHANUJA, S.P.S.; SHASANY, A.K.; SRIVASTAVA, A.; AND KUMAR, S. Assessment of genetic relationships in *Mentha* species. **Euphytica**, v. 111, p. 121-125, 2000.

MAFFEI, M.; CANOVA, D.; BERTEA, C.M.; SCANNERINI, S. UV-A effects on photomorphogenesis and essential-oil composition in *Mentha piperita*. **J. of Photoche. and Photobio.**, v. 52, p. 105-110, 1999.

MONTEIRO, R. Desenvolvimento de Menta e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo. 2009, 80 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2009.

MORRIS, M. A. Commercial Mint Species Grown in the United States. In: LAWRENCE, B. M. Mint: The genus *Mentha*. CRC, Press, Boca Raton FL. 2007. cap. 3, p. 87-136.

NISSEN, O. MSTAT-C a microcomputer for design, management, and analysis of agronomic research experiments. Version 2.11, East Michigan State University, East Lansing. 1993.

PAULUS, D.; MEDEIROS, S.L.P.; SANTOS, O.S.; MANFRON, P.A.; PAULUS, E.; FABBRIN, E. Teor e qualidade do óleo essencial de Menta (*Mentha arvensis* L.) produzida sob cultivo hidropônico e em solo. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 9, p. 80-87, 2007.

RIOS-ESTEPA, R.; TURNER, G.W.; LEE, J.M.; CROTEAU, R.B.; AND LANGE, B.A. A systems biology approach identifies the biochemical mechanisms regulating monoterpene essential oil composition in peppermint. **PNAS**, v. 105, p. 2818-2823, 2008.

ROHLOFF, J.; DRAGLAND, S.; MORDAL R. AND IVERSEN, T. Effect of harvest time and drying method on biomass production, essential oil, and quality of peppermint (*Mentha x piperita* L.). **J. Agric. Food Chem.** v. 53, p. 4143-4148, 2005.

SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A.; SHABIH, F.; AND SANGWAN, R.S. Regulation of essential oil in plants. **Plant Growth Regul.** v. 34, p. 3-21, 2001.

SHASANY, A.K.; GUPTA S.; GUPTA, M.K.; NAQVI, A.A.; BAHL, J.R. AND KHANUJA, S.P.S. Assessment of menthol mint collection for genetic variability and monoterpene biosynthetic potential, **Flav. and Frag. J.** v. 25, p. 41-47, 2010.

SRIVASTAVA, R.K.; SINGH, A.K.; KALRA, A.; TOMAR, V.K.S.; BANSAL, R.P.; PATRA, D.D.; CHAND, S.; NAQVI, A.A.; SHARMA S. AND KUMAR, S. Characteristics of menthol mint *Mentha arvensis* cultivated on industrial scale in the Indo-Gangetic plains. **Ind. Crops Prod.**, v. 15, p. 189-198, 2002.

TUCKER, A.O. AND NACZI, R.F.C. *Mentha*: an overview of its classification and relationship. In LAWRENCE, B. M. Mint: The genus *Mentha*. CRC Press, Boca Raton FL. 2007. cap. 1, p. 3-41.

WILDUNG, M. R.; CROTEAU, R.B. Genetic engineering of peppermint for improved essential oil composition and yield. **Transgenic Research**. v. 14, p. 365-372, 2005.

#### 4 ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO DE *Mentha canadensis* L. NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL NO LITORAL NORTE CATARINENSE

SANTOS, V.M.C.S.<sup>1\*</sup>; SCHNEIDER, T.R.<sup>1</sup>; BIZZO, H.R.<sup>2</sup>; DESCHAMPS, C.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari, BR-280, Km 26, 89.450-000, Araquari, SC. \*[veramcss@gmail.com](mailto:veramcss@gmail.com)

<sup>2</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, Avenida das Américas, 29501, 23020-470, Rio de Janeiro, RJ. [bizzo@ctaa.embrapa.br](mailto:bizzo@ctaa.embrapa.br)

<sup>3</sup> Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua dos Funcionários, 1540, 80035-050, Curitiba, PR. [cicero@ufpr.br](mailto:cicero@ufpr.br)

**RESUMO:** O gênero *Mentha* é cultivado mundialmente para a produção de óleo essencial, com ênfase no constituinte mentol, amplamente utilizado nas indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e de higiene pessoal. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da utilização de diferentes estruturas de propagação e épocas de colheita de *Mentha canadensis* L. no Litoral Norte Catarinense. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso em esquema fatorial 4x2, comparando quatro estruturas de propagação (estolões com 10, 15 e 20 cm de comprimento e estacas com 5 cm de comprimento) e duas épocas de colheita (95 dias após o plantio e 60 dias após a rebrota). Em cada colheita foi avaliado o crescimento vegetativo e produtividade de óleo essencial e de mentol. Na primeira colheita, houve maior acúmulo de massa seca de folhas, caules e total; produtividade de óleo essencial e de mentol quando o plantio foi realizado com mudas obtidas por estaquia. Na segunda colheita, no entanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos para todas as variáveis analisadas. A primeira colheita resultou em médias superiores em relação à segunda colheita à exceção do plantio por estolão com 10 cm em todas as variáveis e estolão com 20 cm para a massa seca de caules. Os constituintes majoritários do óleo essencial foram mentol, mentona e neomentol. Os teores de mentol foram significativamente superiores na

segunda colheita e de mentona na primeira colheita, sendo que o neomentol não apresentou diferença significativa em ambas as colheitas. Os resultados obtidos sugerem que a colheita antecipada da rebrota proporciona maior concentração de mentol no óleo essencial. O uso de estolões de 20 cm como estrutura de propagação pode ser considerada uma alternativa viável para menta, pois além de apresentar níveis similares de produção de óleo essencial e de mentol a partir da segunda colheita ao de áreas implantadas com mudas, diminui o custo de produção.

**Palavras-chave:** *Mentha canadensis*, Lamiaceae, menta, mentol, estolões, estaquia.

**ABSTRACT: Propagation alternatives for production of *Mentha canadensis* L. essential oil at Santa Catarina northern coast.** The genus Mint is cultivated worldwide for essential oil production, with emphasis on its major constituent, menthol, which is used in the pharmaceutical, cosmetics, food and personal care. This work investigates the use of different propagation structures and harvesting times of *Mentha canadensis* L., in Santa Catarina north coast. The experimental design was in randomized blocks in a 4X2 factorial comparing four propagation structures (stolon with 10, 15 and 20 cm and stem cuttings with 5 cm) and two harvesting times (95 days after planting and 60 days after the regrowth). In each harvesting time, it was evaluated the vegetative growth and essential oil and menthol productivity. The first harvest showed greater leaf, branch and total dry mass accumulation, and essential oil and menthol productivity when stem cuttings were used. In the second harvest no differences were observed for all evaluated variables. The first harvest resulted in higher averages than in the second harvest, exception for the use of stolon with 10 cm for all variables and stolon with 20 cm for

stem dry mass. The major constituents of the essential oil were menthol, menthone, neo-menthol. The levels of menthol were significantly higher in the second harvest and menthone in the first harvest, while neomenthol showed no significant difference. The results suggest that early harvest of the regrowth result in great menthol concentration in the essential oil. The use of 20cm stolons as a propagation structure can be considered a viable alternative for mint as it provides similar levels of essential oil and menthol production after the second harvest when compared with stem cuttings and reduces the production costs.

**Key words:** *Mentha canadensis*, Lamiaceae, mint, biomass, menthol, stolons, cuttings.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Mentha* agrupa grande número de espécies e híbridos que produzem óleo essencial (OE) com elevado valor comercial. O constituinte de maior demanda comercial é o monoterpeno mentol, amplamente usado nas indústrias farmacêutica, cosmética, de higiene pessoal e alimentícia (Patel *et al.*, 2007; Lawrence, 2007). O Brasil já foi o maior produtor mundial de óleo essencial de menta, porém atualmente importa US\$ 10 milhões deste óleo por ano (Bizzo *et al.*, 2009).

A espécie *Mentha canadensis* é uma planta subtropical, frequentemente citada como *Mentha arvensis* L. devido à grande similaridade morfológica e ao elevado teor de mentol de ambas. Vem sendo cultivada na Índia, China, Vietnam e Brasil por ser a única fonte viável de cristais de mentol. Seu cultivo foi recomendado nos EUA pela qualidade do óleo essencial e elevado teor de (-)-mentol (Zheljazkov *et al.*, 2010b). Estudos realizados no Distrito Federal com *Mentha canadensis* por Gracindo *et al.* (2006) observaram teores de óleo essencial de 4,17%, contendo 65

% de mentol. Monteiro (2009) avaliou espaçamentos e épocas de colheita do genótipo usado neste trabalho, em Curitiba, obtendo teor de óleo essencial de 2,8% contendo 82 a 85,6% de mentol, enquanto Aflatuni *et al.* (2006) testaram diferentes épocas de colheita no hemisfério norte, com teores de óleo essencial variando de 1,7 a 2,8%, com 78 a 88% de mentol.

A propagação comercial de menta é assexuada de forma a manter as características genéticas dos progenitores (Lawrence, 2007). Pode-se usar mudas provenientes de estaquia, estolões ou brotações de campos de matrizes (Czepak *et al.*, 2008). O plantio por mudas oriundas de estaquia, é usada no Brasil (Paulus & Paulus, 2007), implicando em custos adicionais relativos à depreciação das estruturas de propagação, mão de obra, substrato, irrigação e transplante, além de no mínimo 1 a 2 meses até que as mudas atinjam o tamanho mínimo para ir a campo. Na Índia são usados estolões conservados sob refrigeração do último cultivo, estolões de campos de matrizes e plantas de rebrota (Kumar *et al.*, 2007). Plantios tradicionais usam estolões a 5 cm de profundidade, de forma contínua (ponta com ponta), com espaçamento de 50 cm (Patra *et al.*, 2000). Estudos sobre a influência da época de colheita na quantidade e qualidade do óleo essencial são inúmeros (Aflatuni *et al.*, 2006; Deschamps *et al.*, 2008; Monteiro, 2009; Zheljazkov *et al.*, 2010a) e exigem avaliação regional em função da interação das condições ambientais locais com o metabolismo vegetal.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da utilização de diferentes estruturas de propagação e épocas de colheita no Litoral Norte Catarinense no crescimento vegetativo, na produção e composição do óleo essencial de *Mentha canadensis*.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi implantado em área experimental do Instituto Federal Catarinense -IFC - *Campus Araquari*, localizado no Litoral Norte do estado de Santa Catarina, em janeiro de 2009. A instituição está localizada no município de Araquari, às margens da BR 280, Km 27, situada nas coordenadas geográficas 26°23'56" de latitude Sul e 48°44'30" de longitude Oeste, com altitude média de 4 metros. O solo da área experimental caracteriza-se como um Espodossolo (EMBRAPA, 1999). O clima, segundo KOEPPEN, é do tipo Cfa, clima subtropical úmido. A exsicata de *Mentha canadensis* L. foram depositadas por RFVieira 2282, no herbário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CEN 69.184), proveniente originalmente da coleção de plantas medicinais da Emater, SC.

A produção de mudas foi realizada por estaquia usando-se caules com 5 cm de comprimento que foram colocados em bandejas de isopor, contendo substrato comercial Plantmax HT®. As mudas foram mantidas em condições de casa-de-vegetação, durante 30 dias, com sistema de irrigação intermitente com três turnos de rega, sendo de 15 segundos a cada 15 minutos das 08:00h às 17:00h, 15 segundos a cada hora das 17:00h às 23:00h e 15 segundos a cada 3 horas das 23:00h às 08:00h, para o enraizamento das estacas. Os estolões foram coletados de área implantada há 5 meses, sendo selecionados quanto à sanidade e cortados em comprimentos de 10, 15 e 20 cm.

O experimento foi implantado em área de 190 m<sup>2</sup> no dia 02 de janeiro de 2009, na sequência de um cultivo de aveia. As análises químicas de solo foram realizadas no Laboratório da CIDASC, sendo o resultado apresentado na Tabela 1. A correção do solo não foi necessária e a recomendação de adubação foi realizada



de acordo com Manual da ROLAS - Manual de Adubação e Calagem para os estados de SC e RS (2004) para a cultura de Menta, utilizando-se a proporção de 40 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 30 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 20 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio. A adubação nitrogenada de cobertura foi feita na mesma proporção do plantio aos 30 dias e logo após o primeiro corte. O controle de plantas invasoras foi manual na linha e mecanizado nas entrelinhas.

TABELA 1. Análise de solo da área experimental, coletado na profundidade de 0-20 cm. Araquari-SC, 2009.

Identif.	Textura	pH	Índice (SMP)	P	K	Mat. Org.	Al	Ca	Mg	Na	H+Al	CTC	S. B.V
Nº amostra	% argila			ppm	ppm	%(m/v)	cmolc L <sup>-1</sup>	cmolc L <sup>-1</sup>	cmolc L <sup>-1</sup>	ppm	cmolc L <sup>-1</sup>	cmolc L <sup>-1</sup>	%
1662	14.0	6.60	6.50	>50	194	>10	0.0	16.80	4.60	2.46	21.97	24.43	89.93

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso em esquema fatorial 4x2, com 4 repetições, comparando quatro estruturas de propagação (estolões com 10, 15 e 20 cm de comprimento e estacas com 5 cm de comprimento) e duas épocas de colheita (95 dias após o plantio e 60 dias após a rebrota). Todos os canteiros apresentavam área de 4,5 m<sup>2</sup> com espaçamento de 0,60 entre linhas e 0,30 m entre plantas e vinte plantas cada. A parcela de amostragem foi de 1,08 m<sup>2</sup> correspondente a 6 plantas.

Para a extração do óleo essencial foram utilizadas amostras de 100 g de massa fresca de folhas, submetidas ao processo de hidrodestilação em aparelho graduado de Clevenger durante 2 horas segundo Monteiro (2009). Cada amostra foi composta de 6 plantas e o rendimento foi calculado pela média de 4 repetições. O rendimento de óleo essencial em µL g<sup>-1</sup> de massa fresca foi corrigido para base seca após secagem de amostras a 65°C em estufa com ventilação forçada até massa constante. O mesmo procedimento foi adotado para determinação da massa seca de folhas, caules e total,

A análise das amostras para identificação da porcentagem dos constituintes majoritários do óleo essencial foi realizada por meio de cromatografia em fase gasosa (CG) utilizando-se um cromatógrafo a gás Varian modelo CP 3800, com detector FID (CG-FID); coluna capilar HP5 (5%-fenil-95%-metilsilicone, 30 m X 0,32 mm X 0,25  $\mu$ m). As condições de análise foram as seguintes: a) temperatura do injetor: 250°C, split 1:20; b) quantidade de amostra injetada: 1,0  $\mu$ L; c) gás de arraste: hélio a 1,0 mL min<sup>-1</sup> na temperatura de 40°C; d) temperatura do detector FID: 250°C; e) programação da temperatura do forno: inicial 60°C, elevação da temperatura a 240°C na razão de 3°C por minuto.

Os componentes do óleo foram identificados por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) em sistema Agilent 5973N; coluna capilar HP5MS (5%-fenil-95%-metilsilicone, 30 m X 0,25 mm X 0,25  $\mu$ m). O detector de massas foi operado no modo de ionização eletrônica a 70 eV. A fonte de íons foi operada a 230°C, o analisador de massas a 150°C e a linha de transferência a 260°C. A faixa de massas analisada foi de 40 a 450 u, com 3,15 varreduras por segundo. As demais condições de análise foram as mesmas descritas para a CG.

Os índices de retenção linear foram medidos segundo Van Del Dool & Kratz (1963) pela injeção de uma série de n-alcanos (C<sub>7</sub>-C<sub>26</sub>) na mesma coluna e sob as condições indicadas acima para a análise de CG. A identificação dos constituintes do óleo foi realizada através de pesquisa na espectroteca Wiley 6ª edição pela comparação dos índices de retenção calculados com dados da literatura (Adams, 2007).

As análises de variância (ANOVA) foram realizadas utilizando o programa MSTAT-C (NISSEN,1993). As variâncias dos tratamentos foram testadas quanto à

homogeneidade pelo teste de Bartlett e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

#### **4.3 RESULTADO E DISCUSSÃO**

Houve interação significativa entre os métodos de propagação e épocas de colheita (Tabela 2). As médias da primeira colheita foram significativamente superiores aos da segunda colheita para todas as variáveis analisadas e em todos os tratamentos, exceto para a utilização de estolões de 10 cm de comprimento em todas as variáveis e de estolões com 20 cm para massa seca de caules. Estes resultados podem estar relacionados com as condições ambientais até a primeira colheita com temperatura média mensal de 25°C e precipitação média mensal de 200 mm, mais propícias do que nos meses de abril e maio, (20°C e 50 mm) período correspondente à rebrota até a segunda colheita. Na primeira colheita em abril Outro fator que pode ter contribuído para as maiores médias na primeira colheita foi o menor período de crescimento vegetativo até a segunda colheita (60 dias). Na segunda colheita, a maior densidade de plantas após a rebrota resultou em menor ramificação alterando a proporção de folhas velhas e novas. Segundo Zheljazkov *et al.* (2010a), há diferença na arquitetura do dossel das plantas nas duas colheitas em função da diferente densidade populacional.

TABELA 2. Massa seca de folhas (MSF), caules (MSC) e total (MST) ( $\text{Kg ha}^{-1}$ ) em *Mentha canadensis* L. sob quatro métodos de propagação e duas épocas de colheita. Araquari, SC, 2009.

$\text{Kg ha}^{-1}$	Massa Seca Folhas		Massa Seca Caules		Massa Seca Total		MST
Tratamentos	1ª colheita	2ª colheita	1ª colheita	2ª colheita	1ª colheita	2ª colheita	1ª+2ª
Estolão 10	1016,0 Bc	1239,0 Aa	734,0 Bb	825,0 Aa	1750,0 Bb	2064,0 Aa	3814,0
Estolão 15	1489,0 Abc	902,0 Ba	743,1 Ab	586,7 Ba	2232,0 Ab	1489,0 Ba	3721,0
Estolão 20	1836,0 Ab	1189,0 Ba	742,1 Bb	844,8 Aa	2578,0 Ab	2034,0 Ba	4617,0
Muda de Estaca	3235,0 Aa	820,5 Ba	1252,0 Aa	384,0 Ba	4487,0 Aa	1204,5 Ba	5691,5
CV (%)	24,23		31,49		21,77		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%

Na primeira colheita, houve maior produção de massa seca de folha, caules e total (MST) quando foram utilizadas mudas no plantio. O estabelecimento do plantio a partir de estolões pode ter sido prejudicado pela elevada intensidade pluviométrica (70 mm) nos três primeiros dias após o plantio, sendo observada compactação superficial do solo, o que retardou a brotação dos estolões.

Na segunda colheita, não houve diferença significativa para nenhuma das variáveis analisadas, o que demonstra que a utilização de estolões representa uma alternativa viável à implantação de menta no campo. Estes resultados podem estar correlacionados com a maior densidade populacional e, conseqüentemente, com a maior produção de biomassa, já descrita por diversos autores (Ram & Kumar, 1998; Singh *et al.*, 2003; Monteiro, 2009). A maior densidade e rapidez de rebrota destes tratamentos sugerem um sistema radicular de maior amplitude. Singh *et al.* (2003) relatam produtividade de biomassa fresca de 16 toneladas para plantio por estolões, contra 13,5 toneladas para o plantio de mudas transplantadas da variedade Kosi de *M. arvensis* L. A massa fresca da primeira colheita apresentou teor de umidade médio de 80% e na segunda colheita 85%.

TABELA 3. Rendimento ( $\mu\text{L g MS}^{-1}$ ), produtividade de óleo essencial ( $\text{L ha}^{-1}$ ) e de mentol ( $\text{L ha}^{-1}$ ) em *Mentha canadensis* L. sob 4 métodos de propagação e duas épocas de colheita seqüenciais. Araquari, SC, 2009.

Tratamentos	Rendimento		Produtividade de OE			Produtividade de Mentol		
	1 <sup>a</sup> colheita	2 <sup>a</sup> colheita	1 <sup>a</sup> colheita	2 <sup>a</sup> colheita	Total	1 <sup>a</sup> colheita	2 <sup>a</sup> colheita	Total
Estolão 10	54,1 <b>ns</b>	53,9 <b>ns</b>	55,0 <b>Bc</b>	66,9 <b>Aa</b>	121,9	47,0 <b>Bc</b>	58,3 <b>Aa</b>	105,3
Estolão 15	64,9	55,6	99,0 <b>Abc</b>	64,6 <b>Ba</b>	163,6	75,7 <b>Abc</b>	44,9 <b>Ba</b>	120,1
Estolão 20	59,5	54,7	108,3 <b>Ab</b>	50,4 <b>Ba</b>	158,7	87,6 <b>Ab</b>	56,8 <b>Ba</b>	144,4
Muda de Estaca	77,5	58,2	243,6 <b>Aa</b>	48,9 <b>Ba</b>	292,5	227,8 <b>Aa</b>	42,3 <b>Ba</b>	270,1
<b>CV (%)</b>	12,82		27,75			31,49		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%\*

Não houve efeito dos métodos de propagação e épocas de colheita no rendimento de óleo essencial, evidenciando que nenhum dos fatores afetou o metabolismo de produção de óleo essencial (Tabela 3). Aflatuni *et al.* (2006), avaliando o rendimento de óleo essencial em *M. canadensis*, também não observou diferenças após duas colheitas. Os rendimentos obtidos nas duas colheitas e em todos os tratamentos deste experimento foram superiores aos obtidos por Monteiro (2009) com a mesma espécie e espaçamento nas condições climáticas de Pinhais (PR), tanto na colheita realizada aos 60 dias ( $49,8 \mu\text{L g MS}^{-1}$ ) como aos 90 dias após o plantio ( $47,2 \mu\text{L g MS}^{-1}$ ).

Os resultados de produtividade de óleo essencial e de mentol refletem a mesma tendência de comportamento apresentado para a massa seca total, já que as médias de rendimento de óleo essencial não apresentaram diferença entre os tratamentos. Houve interação significativa entre os tratamentos, sendo obtida maior produtividade de óleo essencial e de mentol na primeira colheita em relação à

segunda, com exceção ao tratamento com a utilização de estolões com 10 cm de comprimento cujas médias foram inferiores na primeira colheita. Na primeira colheita, a utilização da estaquia como método de propagação resultou em maiores produtividades de óleo essencial e de mentol (243,6 e 227,8 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente). Estes resultados foram superiores aos apresentados por Monteiro (2009), de 149,38 e 126,74 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente, para o mesmo espaçamento de 0,30 x 0,60 m nas condições climáticas de Pinhais (PR). A menor produtividade de óleo essencial total e de mentol total (soma das duas colheitas) foram de 121 e 105 L ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Estes valores demonstram a viabilidade das alternativas de plantio, estando de acordo com os relatos de Srivastava *et al.* (2002) que avaliaram *M. arvensis* cultivada em 10 localidades na Índia, registrando variações de produtividade de OE de 99,5 a 165 L ha<sup>-1</sup> e de produtividade de mentol da ordem 72,5 a 117,4 L ha<sup>-1</sup>. Ram & Kumar (1998) testando diversas fontes de adubos orgânicos no plantio por estolões e diferentes épocas de colheita de rebrota (90, 100, 110 e 120 dias) obtiveram produtividade de óleo essencial entre 44 a 203 L ha<sup>-1</sup>. Os autores obtiveram produtividade de óleo essencial superior na colheita da rebrota sendo também maior em períodos de colheita mais reduzidos.

A análise da composição do óleo essencial (Tabela 4) demonstra que os constituintes limoneno, mentona, mentol, pulegona e iso-mentol apresentaram diferença significativa entre os períodos ao contrário do neo-mentol, porém não diferiram entre tratamentos.

Observou-se que o mentol foi o principal constituinte majoritário, sendo a concentração significativamente maior na segunda colheita. Os outros constituintes com maior porcentagem foram mentona cuja porcentagem foi maior na primeira colheita e o neo-mentol. Os constituintes com menor porcentagem foram limoneno e

pulegona, com aproximadamente 1% na primeira colheita e como traços na segunda colheita.

TABELA 4. Constituintes majoritários (%) no óleo essencial de *Mentha canadensis* L. em duas épocas de colheita seqüenciais. Araquari, SC, 2009.

Constituinte	Colheita		CV (%)
	1º	2º	
<b>Limoneno**</b>	1,198 <b>A</b>	0,543 <b>B</b>	43,66
<b>Mentona**</b>	7,808 <b>A</b>	5,018 <b>B</b>	19,71
<b>Neo-mentol ns</b>	3,369	3,464	11,98
<b>Mentol**</b>	82,918 <b>B</b>	88,129 <b>A</b>	4,57
<b>Iso-mentol*</b>	0,358 <b>A</b>	0,162 <b>B</b>	93,13
<b>Pulegona**</b>	1,045 <b>A</b>	0,150 <b>B</b>	37,52

Médias seguidas pela mesma nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey ao nível de 5%\* e ao nível de 1%\*\*

Outros treze constituintes foram identificados com teores inferiores a 0,6%, sendo eles:  $\alpha$  pineno,  $\beta$  pineno, sabineno, mirceno, 3-octanol, 1,8 – cineol, iso-pulegona, linalol,  $\alpha$  terpineol, piperitona, trans-cariofileno, germacreno D e biciclogermacreno.

Os teores de mentol foram maiores na segunda colheita, o que também foi constatado por Aflatuni *et al.* (2006) obtendo 80 e 88% de mentol na primeira e segunda colheitas, respectivamente. A mesma tendência não foi observada por Zheljazkov *et al.* (2010) com *M. x piperita*, ocorrendo teores de mentol e mentona superiores e menor concentração de mentofurano na primeira colheita. Monteiro (2009), comparando colheitas de *Mentha canadensis* L., realizadas aos 90 dias e aos 60 dias, não constatou alteração na percentagem de mentol, obtendo teores similares ao deste trabalho, entre 82,8 e 85,6%. A percentagem de mentol de *M. canadensis* foi superior aos relatados para *M. arvensis*, por Srivastava *et al.* (2002)

em 10 regiões da Índia, variando de 66,7 a 77,4% e por Ram & Kumar (1997) com amplitude de 79,1 a 84,5 em experimentos de adubação orgânica e épocas de colheita. A diferença apresentada entre a composição do óleo essencial da primeira colheita com valores de mentol inferiores, e de seus precursores limoneno, pulegona e mentona maiores com a proporcional inversão na segunda colheita, podem estar associados ao estágio de desenvolvimento das plantas e à estrutura morfológica do dossel. A primeira colheita foi realizada aos 95 dias, com pleno florescimento e já com acentuada senescência das folhas velhas e a segunda colheita aos 60 dias após a rebrota, logo no início do florescimento. A maior concentração dos precursores de mentol em folhas novas na primeira colheita e a predominância de mentol na segunda colheita foi relacionada com a idade do tecido foliar por diversos autores (Gershenzon *et al.*, 2000; Croteau *et al.*, 2005; Rios-Esteva *et al.*, 2008).

#### **4.4 CONCLUSÃO**

Apesar das condições adversas para a brotação de estolões que resultou neste trabalho em produtividades inferiores de óleo essencial e de mentol na primeira colheita, os resultados obtidos na segunda colheita justificam a recomendação de utilização de estolão de 20 cm na propagação de menta como forma de redução de custo de implantação da cultura e consequentemente proporcionando maior rentabilidade da cultura.



## AGRADECIMENTO

Os autores agradecem aos pesquisadores Dr. Roberto F. Vieira e Dr. Dijalma B. Silva, (EMBRAPA/CENARGEN, Brasília, DF), pelo envio do material vegetal usado no experimento.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry**, 4<sup>th</sup> ed. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corp., 2007, 804p.

AFLATUNI, A.; SARI, J.U.; HOHTOLA, A. Optimum harvesting time of four *Mentha* species in Northland Finland. **Journal of Essential Oil Research**, v.18, p.134-8, 2006.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, p. 588-94, 2009.

CROTEAU, R.B. et al. Menthol biosynthesis and molecular genetics. **Naturwissenschaften**, v.92, p.562-77, 2005.

CZEPAK, M.P.; CORRÊA JÚNIOR, C.; SCHEFFER, M. C.; SCHMIDT, E.R.; ALMEIDA, N.G. Plantas aromáticas na região Sul. Cap V, p. 597 - 624 In: BANDONI, A.L.; CZEPAK, M.P. Os recursos vegetais aromáticos no Brasil: seu aproveitamento industrial para a produção de aromas e sabores. EDUFES, Vitória, ES, 2008.

DESCHAMPS, C. et al. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em espécies de menta. **Ciências Agrotécnicas**, v.32, n.3, p.725-30, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Sistema Brasileiro de Classificação de solos**, Brasília: Embrapa Produção de Informação, 1999.

GERSHERZON, J.; McCONKEY, M.E.; CROTEAU, R.B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiology**, v.122, p.205-13, 2000.

GRACINDO, L.A.M.B. et al. Chemical characterization of mint (*Mentha spp.*) germoplasm at Federal District, Brazil. **Revista Brasileira Plantas Medicinai**s, v. 8, p 5-9, 2006.

KUMAR, S.S.; SHASHI PANDEY-RAI, S.; RAI, S.K. **The cultivation of mints in India**. In: LAWRENCE, B.M. **Mint: The genus *Mentha***. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2007. p.137-61.

LAWRENCE, B.M. **Mint: The genus *Mentha***. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2007, 547p.

MONTEIRO, R. **Desenvolvimento de Menta e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo**. 2009. 80p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

NISSEN, O. **MSTAT-C a microcomputer for design, management, and analysis of agronomic research experiments**. Version 2.1 East Lansing: Michigan State University, 1993. 300p.

PATEL, T.; ISHIUJI, Y.; YOSIPOVITCH, G. Menthol: A refreshing look at this ancient compound. Review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.57, p.873-8, 2007.

PATRA, D.D.; ANWAR, M.; CHAND, S. Integrated nutrient management and waste recycling for restoring soil fertility and productivity in Japanese mint and mustard sequence in Uttar Pradesh, India. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.80, p.267-75, 2000.

PAULUS, D.; PAULUS, E. Efeito de substratos agrícolas na produção de mudas de hortelã propagadas por estaquia. **Horticultura Brasileira**, v.25, p.594-7, 2007.

RAM, M.; KUMAR, S. Yield improvement in the regenerated and transplanted mint *Mentha arvensis* by recycling the organic wastes and manures. **Bioresource Technology**, v.59, n.2, p.141-9, 1998.

RIOS-ESTEPA, R. et al. A systems biology approach identifies the biochemical mechanisms regulating monoterpenoid essential oil composition in peppermint. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America – PNAS**, v.105, p.2818-23, 2008.

SINGH, A.K. et al. New practices in the cultivation of the mint *Mentha arvensis* in the Indo-Gangetic plains. **Experimental Agriculture**, v.39, p.199-207, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Rolas)**, 10.ed. Porto Alegre: UFRGS, 2004. 400p.

SRIVASTAVA, R.K. et al. Characteristics of menthol mint *Mentha arvensis* cultivated on industrial scale in the Indo-Gangetic plains. **Industrial Crops and Products**, v.15, p.189-98, 2002.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D. P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v.11, p. 463-71, (1963).

ZHELJAZKOV, V.D. et al. Peppermint productivity and oil composition as a function of nitrogen, growth stage and harvest time. **Agronomy Journal**, v.102, p.124 -8, 2010a.

ZHELJAZKOV, V.D. et al. Yield and composition of oil from japanese cornmint fresh and dry material harvested successively. **Agronomy Journal**, v. 102, p.1652-56, 2010b.

## 5 EXTRATO DE ALGA E ÁCIDO FÚLVICO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L.

### RESUMO

A menta é uma planta da família das Lamiaceas cultivada em todos os continentes pelas suas propriedades medicinais e para a extração de óleo essencial. Bioestimulantes são definidos como materiais que aplicados em quantidades reduzidas, induzem o crescimento, o desenvolvimento vegetal, a tolerância ou resistência a estresses bióticos e abióticos, sem que se possa atribuir-lo à aplicação tradicional de nutrientes. O objetivo deste trabalho foi de estudar a influência dos bioestimulantes (extrato de alga e ácido fúlvico) no metabolismo de *Mentha canadensis* L. através da avaliação da produção de biomassa e de óleo essencial. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na fazenda Canguiri da UFPR, com mudas provenientes de estaquia, delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições. Foram avaliados 13 tratamentos: testemunha, 6 tratamentos com ácido fúlvico, e 6 com extrato de alga. Ambos em aplicação no solo e foliar nas concentrações 50, 250 e 500 mg kg<sup>-1</sup>. A avaliação foi feita aos 95 dias, determinando-se as variáveis: massa seca de folhas (MSF), caules (MSC) e total (MST), a relação MSF/MST, rendimento e produtividade de óleo essencial. A extração de óleo essencial foi realizada por hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado. Pulverizações foliares e no solo com extrato de alga e ácido fúlvico aumentam a produção de massa seca de folhas e total em *Mentha canadensis*. O rendimento de óleo essencial foi maior com o uso de extrato de alga aplicado no solo a 500 mg L<sup>-1</sup> e com aplicações foliares de 50 e 500 mg L<sup>-1</sup> respectivamente, 65,96, 60,16 e 66,88 µ L g<sup>-1</sup>. O uso de ácido fúlvico e extrato de alga favorece a produtividade de óleo essencial de *Mentha canadensis* L.

Palavras chave: ácido fúlvico, extrato de alga, menta, planta aromática

## SEAWEED EXTRACT AND FULVIC ACID ON THE ESSENTIAL OIL PRODUCTION OF *Mentha canadensis* L.

### ABSTRACT

Mint belongs to the Lamiaceae family and it is cultivated worldwide because of its medicinal properties and essential oil production. Biostimulants are defined as materials used in small quantities and which are able to induce growth, plant development, tolerance or resistance to biotic and abiotic stresses. The objective of this work was to evaluate the effects of the biostimulants, seaweed extract and fulvic acid on the biomass and essential oil production of *Mentha canadensis* L. The plants were obtained by stem cuttings and the experiment was carried out in greenhouse conditions at the Canguiri Experimental Station/UFPR. The experimental design was in completely randomized design comparing the effect of fulvic acid sprayed on soil and foliage (50, 250 and 500 mg kg<sup>-1</sup>), seaweed extract on soil and foliage spraying (50, 250 and 500 mg kg<sup>-1</sup>) with control plants (distilled water), with five replications. The evaluation of leaf (LDM), stem (SDM) and total dry mass (TDM), the LDM / TDM index, yield and productivity of essential oil were performed at 95 days after transplanting. The essential oil was extracted by hydrodistillation using a Clevenger apparatus. Soil and foliar application of seaweed extract and fulvic acid resulted in great leaf area and total dry mass accumulation. Essential oil content was higher in plants treated with 500 mg L<sup>-1</sup> of seaweed extract sprayed on soil or with 50 e 500 mg L<sup>-1</sup> by foliar application, Essential oil yield of *Mentha canadensis* L. is increased with the use of fulvic acid and seaweed extract due to the higher biomass production.

Key words: fulvic acid, seaweed extract, mint, aromatic plant

## 5.1 INTRODUÇÃO

O gênero *Mentha* é composto por inúmeras espécies e híbridos usados como condimento, como planta medicinal na fitoterapia e para a extração de óleo essencial. A grande variabilidade genética devido à hibridização tem como consequência uma considerável diversidade morfológica que por sua vez se amplia nas variações de constituintes majoritários do óleo essencial. A *M. canadensis* L. é a espécie usada pelos principais produtores mundiais, a Índia e a China para a extração de óleo essencial rico em mentol. Este monoterpene apresenta demanda comercial pelas indústrias de alimentos, farmacêutica e de higiene pessoal (LAWRENCE, 2007).

Castro & Vieira (2001) definiram bioestimulantes como materiais orgânicos, aplicados em quantidades reduzidas, que induzem o crescimento e desenvolvimento vegetal, sem que se possa atribuir-lo à aplicação tradicional de nutriente.

Schmidt *et al.* (2003) citam como bioestimulantes o extrato da alga marinha (*Ascophyllum nodosum*), ácidos húmicos, aminoácidos, fungicidas à base de triazol. O extrato de alga (*Ascophyllum nodosum*) apresenta na sua composição auxinas, citocininas e giberelinas. O ácido fúlvico é o componente hidrossolúvel da matéria orgânica do qual já foram descritas inúmeras ações fitoreguladoras.

O ácido fúlvico e o extrato de alga são insumos que contêm diversas substâncias promotoras de crescimento (SINHA, 2009). O estudo dos efeitos destas substâncias em *M. canadensis* pode levar a um ajuste fisiológico que favoreça a produção de biomassa pelo metabolismo primário e/ou o rendimento de óleo essencial ativando o metabolismo secundário, propiciando através da pulverização conjunta ou isolada um aumento da produtividade de óleo essencial.

Não foi encontrado nenhum registro de investigação dos efeitos do extrato de alga ou ácido fúlvico em mentas. Portanto, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito dos bioestimulantes (ácido fúlvico e extrato de alga) no metabolismo de *M. canadensis* pela avaliação da produção de biomassa e da produção de óleo essencial.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido de dezembro de 2009 a março de 2010, em casa de vegetação da Estação Experimental do Canguiri – UFPR, no município de Pinhais, Região Metropolitana de Curitiba, localizado a 25°23.258' latitude Sul, 49°07.713' longitude Oeste, com 919 m de altitude. A região apresenta clima subtropical úmido mesotérmico.

### Material vegetal e preparo de mudas

Foi utilizado neste experimento o acesso da Coleção de *Mentha* - CM 37, (*Mentha canadensis* L.) proveniente da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. As exsicatas do material vegetal foram depositadas por RFVieira 2282 no herbário desta instituição sob o número de referência CEN 69.184.

As mudas foram propagadas por estaquia, usando-se pedaços de caule de 5 a 10 cm como material propagativo, conforme descrito no capítulo 4. Após colocadas em bandejas de tubetes foram mantidas em condições de casa de vegetação, com tela de sombrite 70% nas laterais, com sistema de irrigação por microaspersão acionado em três turnos de rega durante 5 minutos, às 7.00h, 12.00 h e 17.00h.

### Implantação e condução do experimento

As mudas de 15 cm selecionadas com condições fitossanitárias adequadas foram transplantadas aos 25 dias, uma em cada vaso de 17 x 30 cm contendo 5 kg de solo da área experimental da fazenda, encaminhado para análise química ao Laboratório de Biogeoquímica e Nutrição Mineral de Plantas do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola (DSEA) da UFPR e cujos resultados encontram-se na Tabela 1. Em função das características adequadas do solo/substrato não foi realizada a correção do pH nem adicionada suplementação mineral. Os vasos foram mantidos em condições de casa de vegetação, com tela de sombrite de 70% nas laterais, com sistema de irrigação por microaspersão acionado em três turnos de rega durante 5 minutos, às 7.00h, 12.00 h e 17.00h.

TABELA 1 - Análise de solo usado como substrato para propagação em bandejas de tubetes e nos vasos experimentais. Pinhais-PR, 2009.

pH	Al <sup>+3</sup>	H <sup>+1</sup> + Al <sup>+3</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	K <sup>+</sup>	SB	T	P	C	V	Ca/Mg	Argila	
CaCl <sub>2</sub>	SMP	Cmol <sub>c</sub> DM <sup>-3</sup>					mg/dm <sup>-3</sup>		g/dm <sup>-3</sup>	%	g/kg <sup>-1</sup>		
6,00	6,30	0,00	4,00	9,00	3,70	1,57	14,27	18,27	183,50	35,1	78	2,4	550,0

Laboratório de Biogeoquímica e Nutrição Mineral de Plantas do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola (DSEA) da UFPR

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, com 13 tratamentos, com 5 repetições cada. Dos 13 tratamentos um representou a testemunha, 6 tratamentos receberam ácido fúlvico, sendo 3 com aplicação foliar e 3 com aplicação direta no solo, nas concentrações de 50, 250 and 500 mg kg<sup>-1</sup>. Os 6 tratamentos de extrato de alga, foram conduzidos da mesma forma. As pulverizações foram feitas com intervalos de 20 dias totalizando 4 aplicações. A tabela 2 especifica os tratamentos e as concentrações testadas e as Figura 1 e 2 apresentam o cronograma esquemático de manejo da cultura e algumas etapas do experimento, respectivamente.

TABELA 2 - Tratamentos no experimento de *Mentha canadensis* L. Pinhais-PR, 2009.

Denominação	Tratamentos	Dose
T	Testemunha	-
AFS 50	Ácido Fúlvico solo	50 mg L <sup>-1</sup>
AFS 250	Ácido Fúlvico solo	250 mg L <sup>-1</sup>
AFS 500	Ácido Fúlvico solo	500 mg L <sup>-1</sup>
AFF 50	Ácido Fúlvico foliar	50 mg L <sup>-1</sup>
AFF 250	Ácido Fúlvico foliar	250 mg L <sup>-1</sup>
AFF 500	Ácido Fúlvico foliar	500 mg L <sup>-1</sup>
EAS 50	Extrato de alga solo	50 mg L <sup>-1</sup>
EAS 250	Extrato de alga solo	250 mg L <sup>-1</sup>
EAS 500	Extrato de alga solo	500 mg L <sup>-1</sup>
EAF 50	Extrato de alga foliar	50 mg L <sup>-1</sup>
EAF 250	Extrato de alga foliar	250 mg L <sup>-1</sup>
EAF 500	Extrato de alga foliar	500 mg L <sup>-1</sup>



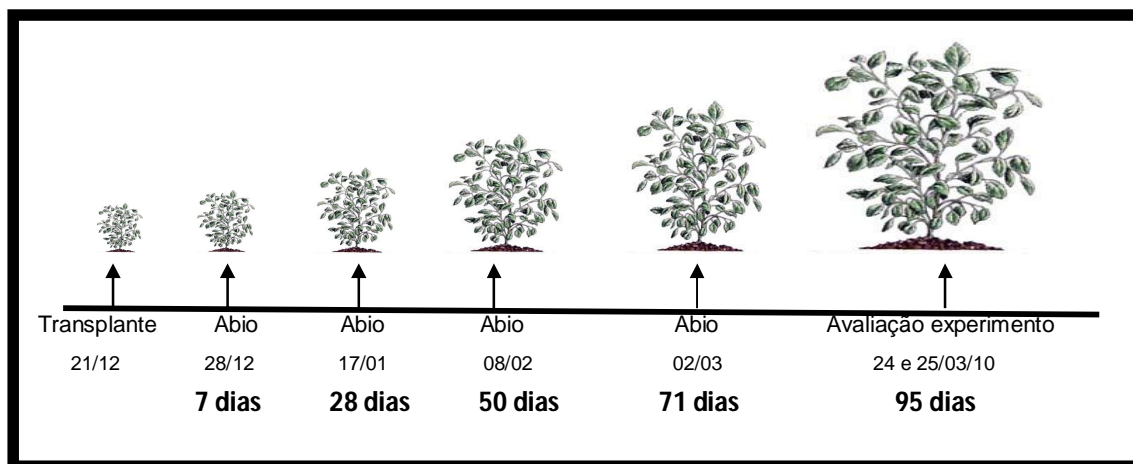


FIGURA 1 - Cronograma esquemático do experimento: Abio - aplicação de bioestimulantes

O ácido fúlvico aplicado foi extraído de Leonardita Australiana, fornecido pela Nutriplant®, com concentração de 10% na formulação. A formulação sólida de extrato de alga *Ascophyllum nodosum* foi obtida da Acadian Seaweeds®. A aplicação dos bioestimulantes foi realizada com equipamento de pulverização pressurizado por CO<sub>2</sub> com vazão de 100 ml min<sup>-1</sup> por bico e pressão constante (50 Psi), segundo esquema apresentado na Figura 1, de forma a molhar a área foliar sem causar escorrimento, sendo feita a calibração de cada pulverização em função do tempo de pulverização. Portanto, as vazões de pulverização foram crescentes, usando-se 27,8 L ha<sup>-1</sup> na primeira e segunda aplicação, 55,6 L ha<sup>-1</sup> na terceira e 111,2 L ha<sup>-1</sup> na última, em função do estágio de desenvolvimento vegetativo e aumento da área foliar. Nos tratamentos com aplicações foliares, os vasos foram cobertos por plástico de forma a evitar o contato do produto com o substrato e sua absorção radicular e os tratamentos laterais também foram isolados com plásticos (Figura 2D).

Foi realizada uma aplicação foliar de calda bordalesa a 1%, em dezembro para controle preventivo de ferrugem (*Puccinia menthae*) e de Nim para controle de lagarta, ambos com espalhante adesivo Tween 80. Aos 95 dias as plantas foram cortadas e as variáveis analisadas.

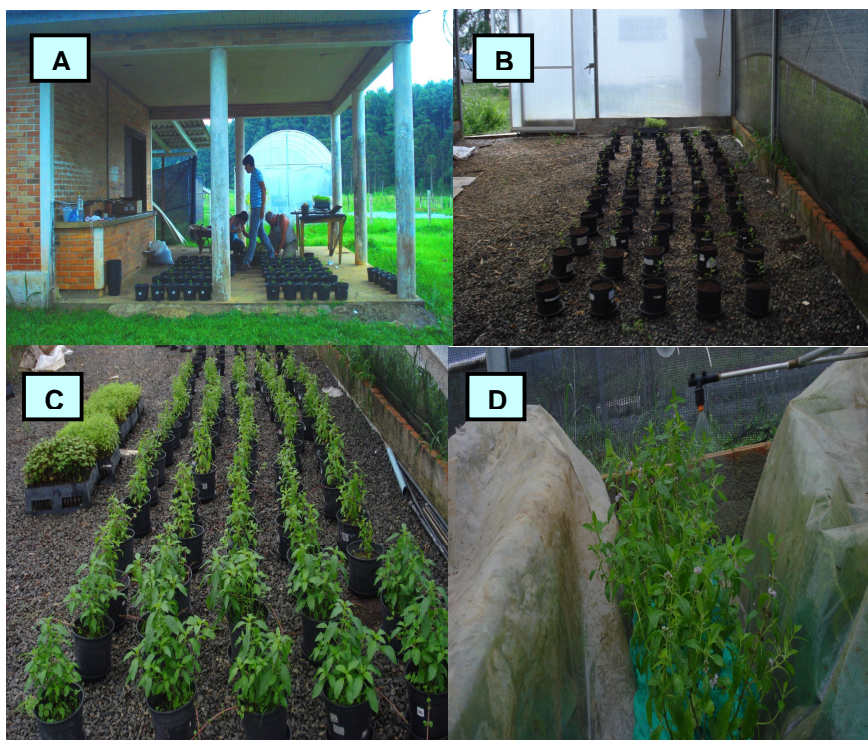


FIGURA-2 A- Implantação do experimento, B- Experimento aos 5 dias, C- Experimento aos 30 dias, D- Pulverização foliar com o substrato e plantas laterais protegidas por plástico, Pinhais, PR. 2009/2010.

### **Extração do óleo essencial**

A extração de óleos essenciais foi realizada no Laboratório de Ecofisiologia do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias (UFPR), em março de 2010. Utilizaram-se amostras de 100 g de massa verde de tecidos foliares para a extração por hidrodestilação durante 2 horas em aparelho graduado Clevenger.

### **Variáveis analisadas**

A massa seca de folhas (MSF), caules (MSC) e total (MST) foram determinadas após desidratação das amostras a 65°C em estufa com ventilação forçada (FANEM - Mod. 320 SE) até atingirem massa constante.

O rendimento de óleo essencial foi quantificado por meio de micropipeta de precisão e calculado em  $\mu\text{L g}^{-1}$  de MS. A produtividade de OE foi determinada a partir do produto do rendimento de OE em  $\mu\text{L g}^{-1}$  de massa fresca corrigido para base seca pela massa seca total por hectare.

### **Análises estatísticas**

A análise de variância dos resultados foi realizada com o auxílio do programa MSTAT-C (NISSEN, 1993), sendo as médias testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Desenvolvimento vegetativo**

Os valores de massa seca de folhas (MSF), massa seca de caules (MSC), massa seca total (MST) e a relação MSF/MST são apresentados na Tabela 3.

Os valores de MSF obtidos neste experimento foram inferiores aos de Monteiro (2009) com a mesma espécie e no mesmo local, em condições de campo ( $2733,8 \text{ Kg ha}^{-1}$ ) provavelmente em consequência da menor intensidade luminosa na casa de vegetação.

Observa-se que a testemunha (T) apresentou desempenho significativamente menor em todas as variáveis, exceto MSC e que os tratamentos à base de ácido fúlvico e extrato de alga não diferiram entre si significativamente.

TABELA 3 – Massa seca de folhas (MSF), Massa seca de caules (MSC), massa seca total (MST) e relação MSF/MST, em função dos tratamentos: T-Testemunha; AFS-Ácido fúlvico solo; AFF- Ácido fúlvico foliar; EAS- Extrato de alga solo; Extrato de alga foliar e (Anexo 25 ) Pinhais, 2010.

Tratamento	MSF Kg ha <sup>-1</sup>	MSC kg ha <sup>-1</sup>	MST Kg ha <sup>-1</sup>	MSF/MST
<b>T</b>	145,7 B	427,8 A	573,5 B	0,2513 B
<b>AFS 250</b>	384,7 A	472,4 A	857,1 AB	0,4512 A
<b>AFS 500</b>	352,9 A	441,8 A	794,6 AB	0,4529 A
<b>AFF 50</b>	352,8 A	436,0 A	788,8 AB	0,4467 A
<b>AFF 250</b>	368,2 A	458,0 A	826,2 AB	0,4537 A
<b>AFF 500</b>	417,6 A	470,7 A	888,3 AB	0,4704 A
<b>EAS 50</b>	401,0 A	467,1 A	868,1 AB	0,4607 A
<b>EAS 250</b>	385,9 A	420,9 A	806,8 AB	0,4824 A
<b>EAS 500</b>	382,6 A	445,3 A	827,9 AB	0,4621 A
<b>EA 50</b>	375,2 A	443,8 A	818,9 AB	0,4585 A
<b>EA 250</b>	378,9 A	492,0 A	870,9 AB	0,4336 A
<b>EA 500</b>	403,6 A	562,4 A	966,0 A	0,4170 A
<b>CV %</b>	17,13	18,74	15,60	12,47

As letras comparam as médias na coluna. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

Apesar dos níveis de senescência foliar terem sido responsáveis pelas baixos valores de MSF e MST, maior intensidade da abscisão foliar na testemunha é claramente observada pela menor MSF e menor relação MSF/MST. Os níveis de auxina são altos nas folhas jovens, decrescendo de forma progressiva nas maduras e são relativamente baixos nas folhas em senescência, quando se inicia o processo de abscisão foliar. Sabe-se também que a síntese de etileno é aumentada a partir do seu precursor, o aminoácido metionina, em situações de estresse fisiológico ou quando as taxas de auxina são reduzidas (TAIZ & ZEIGER, 2004). Tendo em vista que tanto o extrato de alga, como o ácido fúlvico contém auxinas, o balanço entre auxinas e etileno pode ter sido favorecido nos tratamentos, evitando a senescência. Da mesma forma, a ação da citocinina presente no extrato de alga, como retardador de senescência foliar também pode ter contribuído para redução a redução da abscisão foliar nos tratamentos com EA (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Schmidt *et al.* (2003) descrevem a redução da senescência, da redução da fotossíntese e da respiração como em trabalho realizado com extrato de alga e ácido húmico. Pant *et al.* (2010) usaram extratos aquosos de vermicomposto suplementados com ácido húmico e extrato de alga, constatando aumento na massa

seca de *Brassica rapa* cv. Bonsai, assim como aumento no teor de nutrientes e na taxa de carotenóides total, observando ainda que a atividade antioxidante e teor total de fenóis foram maiores em função da adubação orgânica.

A avaliação da relação MSF/MST demonstra que todos os tratamentos obtiveram elevada proporção de caules sendo que nenhum atingiu a proporção de 0,5. Monteiro (2009) investigando a mesma espécie em Pinhais - PR, porém em condições de campo, observou índices maiores de MSF/MST e decrescentes em função da idade da planta: 0,7 e 0,61 aos 60 e 90 dias, respectivamente.

Tanto a senescência das folhas como a elevada proporção de caules neste experimento podem ser resultados da idade das plantas, que foram avaliadas 95 dias após o transplante nos vasos quando já tinham 25 dias de propagação num total de 120 dias, quando a senescência das folhas é intensa (ROHLOFF *et al.*, 2005). No caso da menta este fato representa uma limitação na produção de óleo, uma vez que os tricomas glandulares que secretam o óleo se localizam nas folhas (DESCHAMPS *et al.*, 2006). O tratamento controle (T) não apresentou diferença significativa de MSC em relação àqueles em que foi usado ácido fúlvico e extrato de alga. A massa fresca apresentou teor de umidade médio de 79%.

A menor intensidade luminosa e as condições térmicas da casa de vegetação durante o verão podem ter contribuído para os resultados obtidos. Situações ambientais adversas promovem a formação de radicais livres, oxidantes de membranas celulares, mitocôndrias e cloroplastos. Vasconcelos *et al.* (2009) constataram a ativação do complexo enzimático anti-oxidativo em plantas de milho e soja submetidas a estresse hídrico, usando bioestimulantes à base de substâncias húmicas e aminoácidos, componentes estes também presentes nos tratamentos avaliados, com a exceção da testemunha.

A forma de aplicação e as concentrações de ácido fúlvico não tiveram influência em nenhuma das variáveis de crescimento vegetativo, não comprovando as vantagens citadas por Atiyeh *et al.* (2002) e Schmidt *et al.* (2003) que constataram que o seu elevado conteúdo de grupos carboxílicos (COOH), amino, fenólicos e ligações peptídicas quando aplicados no solo, aumentam o poder tampão, na medida em que aumentam a CTC, evitando lixiviação, favorecendo a ação intercoloidal dos compostos orgânicos com as argilas, melhorando ainda a estrutura e porosidade.



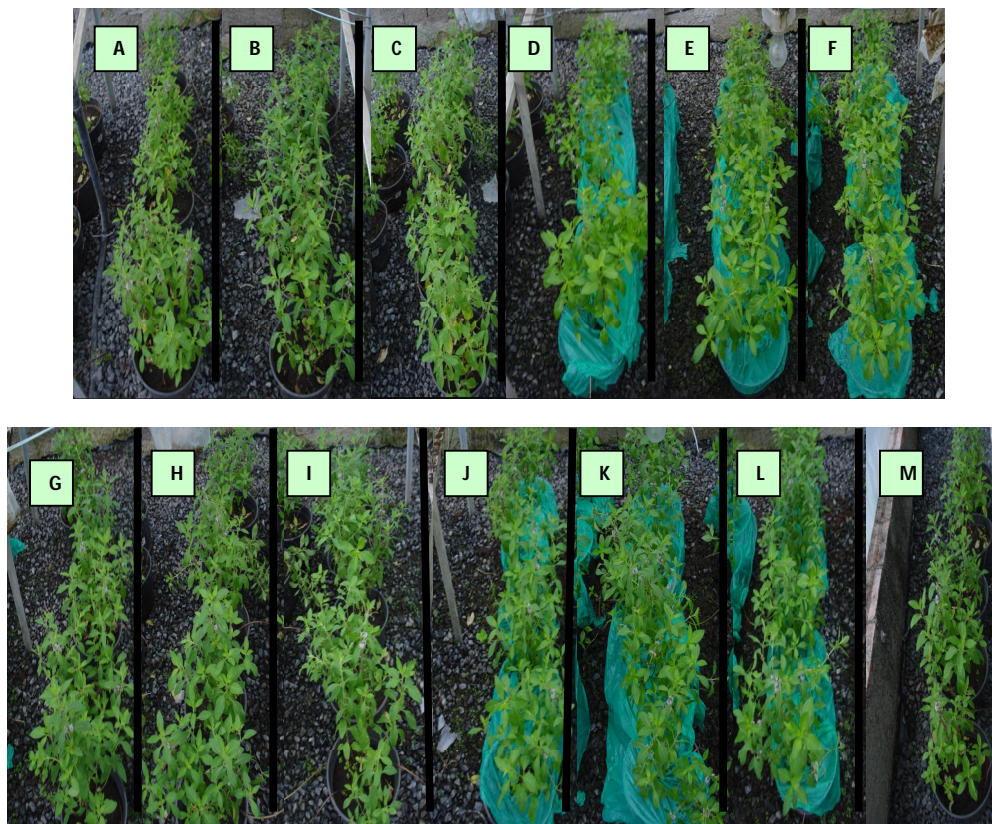


FIGURA 3 – Tratamentos aos 65 dias: A- AFS 50; B-AFS 250; C- AFS 500; D- AFF 50; E- AFF 250; F- AFF 500; G- EAS 50; H- EAS 250; I- EAS 500; J- EAF 50; K- EAF 250; L- EAF 500; M- Testemunha, Pinhais – PR, 2010.

Por outro lado a característica do baixo peso molecular do ácido fúlvico, citada por Pramanik, (2007) e Schmidt *et al.* (2003) que lhe permite o acesso e translocação celular pela aplicação foliar conduzindo os íons Zn, Cu, Mg, Fe pela sua ação quelante, também não provocou diferenças de massa seca da aplicação no solo em relação à aplicação foliar.

Nas aplicações com extrato de alga, nem a forma de aplicação nem as concentrações apresentaram diferenças significativas entre si. A diferença entre os tratamentos e a testemunha T pode ser explicada pelos fatores citados acima, assim como também pode ser resultado de outros componentes presentes no extrato de alga como citocininas e giberelinas. A ação destas substâncias promotoras de crescimento foi avaliada no gênero *Mentha* por vários autores. Scravoni *et al.* (2006) observaram aumento de massa seca e altura da parte aérea em *M. x piperita* pulverizada aos 15 e 30 dias com concentrações de 50 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> e BAP

(benzilaminopurina) em relação às plantas controle. Kaul & Kapoor (2004) aplicaram soluções de GA<sub>3</sub> entre 10-200 ppm em *M. arvensis* na floração e constataram aumentos de 30 a 50% na produção de massa total. El-Kelwati & Croteau (1986) também observaram aumento na biomassa das *Mentha x piperita* e *M. spicata*, com aplicações foliares de quatro diferentes fontes de citocininas (cinetina, difeniluréia, benzilaminopurina e zeatina) a 1 – 10 ppm porém, *M. suaveolens* não sofreu diferença na biomassa. Singh *et al.* (1999), observaram que em *M. spicata* o tratamento por imersão de estolões por 24 h em ácido giberélico (1kg m<sup>3</sup>) alteraram de forma considerável as características fenotípicas das plantas, aumentando sua altura e reduzindo a ramificação sem reversão ao longo do tempo. Neste experimento, o aumento da altura não foi constatado visualmente, nem avaliado, porém os tratamentos não alteraram a massa de caules em relação à testemunha. São descritos ainda os efeitos de redução no conteúdo de clorofilas, na taxa de troca de CO<sub>2</sub> e na condutância estomática associados à aplicação de ácido giberélico. A concentração usada e o tempo de imersão devem ter contribuído para as alterações observadas.

Zhang & Erwin (2004) detectaram e quantificaram a presença de citocininas através de ensaios por ELISA, em ácido fúlvico e extrato de alga marinha, identificando a zeatina ribosídica e adenosina isopentenil. Foi constatada ainda, maior concentração foliar destes compostos em plantas tratadas com os bioestimulantes, correlacionando positivamente com a resistência à seca apresentada em relação às plantas controle. Zhang *et al.* (2003) comprovaram o aumento da resistência de plantas submetidas a períodos de 72 a 96 horas de estresse térmico a 37°C, quando pulverizadas com extrato de alga e ácidos húmicos.

## **Produção de óleo essencial**

### **Rendimento**

Na Tabela 4 são apresentados os resultados do rendimento e a produtividade de óleo essencial obtidos. As variações nos valores de rendimento de óleo essencial foram de baixa amplitude se comparados com a dos valores de crescimento vegetativo. Os tratamentos com EAS 500, EAF 50 e EAF 500 apresentaram os

valores mais elevados de rendimento de óleo essencial. A avaliação de rendimento neste experimento foi feita aos 95 dias e os resultados foram superiores aos relatados por Monteiro (2009) a campo, com a mesma espécie, que fez avaliação aos 60 dias obtendo 55,38  $\mu\text{L g}^{-1}$  e aos 90 dias obtendo 35,96  $\mu\text{L g}^{-1}$  de rendimento de óleo essencial.

Com relação ao uso de substâncias reguladores do crescimento vegetal em *Mentha*, Kaul & Kapoor (2004) avaliaram a influência do ácido giberélico (10 a 200  $\text{mg L}^{-1}$ ) em *M. arvensis*, observando decréscimo de 5 a 15% no rendimento de óleo essencial, enquanto Farooqi & Sharma (1988) com a mesma espécie aumentaram significativamente o rendimento de óleo essencial aplicando clorito de cloromequat e não obtiveram alteração no rendimento com etephon. Em *M. piperita* L., Scravoni *et al.* (2006) não constatarem diferenças no rendimento com aplicações foliares de 50  $\text{mg L}^{-1}$  de GA e BAP enquanto El-Kelwati & Croteau (1986) obtiveram redução do rendimento de óleo essencial com etephon a 250  $\text{mg L}^{-1}$  e aumento com a aplicação de daminozida a 1000  $\text{mg L}^{-1}$ . A grande variação nas respostas do gênero *Mentha* à aplicação de reguladores vegetais pode ser atribuída às diferenças entre as espécies, concentrações aplicadas, aliado à interação com os fatores ambientais e fisiológicos da planta.

TABELA 4 – Rendimento e produtividade de óleo essencial em função dos tratamentos: AFS – ácido fúlvico solo, AFF – ácido fúlvico foliar, EAS – extrato da alga solo, EAF – extrato da alga foliar, Pinhais, 2010.

Tratamento	Rendimento $\mu\text{L g}^{-1}$		Produtividade OE $\text{L ha}^{-1}$	
<b>T</b>	37,16	C	5,40	C
<b>AFS 250</b>	39,58	BC	15,23	ABC
<b>AFS 500</b>	48,24	ABC	16,80	ABC
<b>AFF 50</b>	41,49	BC	14,86	BC
<b>AFF 250</b>	49,76	ABC	18,18	AB
<b>AFF 500</b>	36,87	C	15,38	ABC
<b>EAS 50</b>	52,16	ABC	21,15	AB
<b>EAS 250</b>	55,70	ABC	21,49	AB
<b>EAS 500</b>	65,96	A	25,33	AB
<b>EAF 50</b>	60,16	AB	22,56	AB
<b>EAF 250</b>	47,79	ABC	18,35	AB
<b>EAF 500</b>	66,88	A	26,97	A
<b>CV %</b>	16,91		25,20	

Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.



## Produtividade de óleo essencial

A produtividade de óleo essencial foi resultado das variações de rendimento, assumindo aproximadamente a mesma tendência. Todos os tratamentos com extrato de alga apresentaram valores maiores de produtividade de óleo essencial em relação à testemunha. Das aplicações de ácido fúlvico, somente AFF 250 aumentou a produtividade de óleo essencial.

El-Kelwati & Croteau (1987) trabalhando com diversas Lamiaceas observaram taxas de 100% na base fresca de aumento na produtividade de óleo essencial com a aplicação de cinetina, atribuindo esse aumento ao incremento da atividade de biossíntese de monoterpenos e descartando sua influência no aumento do crescimento vegetativo e em alterações na população de glândulas secretoras de óleo. Neste experimento não se pode ignorar o significativo aumento da massa seca em função dos tratamentos, a qual foi reforçada pela também significativa diferença de rendimento. Masseto (2009) também observou que em *Lavandula dentata* L. as aplicações de GA3 e extrato de alga marinha aumentam a produtividade do óleo essencial de forma indireta pelo aumento da biomassa de botões e antese.

Observa-se que a aplicação do extrato de alga favoreceu de forma mais efetiva a produtividade de óleo essencial do que o ácido fúlvico sendo que as médias dos tratamentos de cada insumo foram de 22,67 e 16,09 L ha<sup>-1</sup>. Também Storck (2008) observou alteração na produtividade do óleo essencial de *Pogostemon clabin* Benth. pela aplicação de 15 mg L<sup>-1</sup> de extrato de alga marinha, constatando aumento de 60,6% e de 58% quando utilizado somente GA3.

A forma de aplicação não provocou diferenças significativas de produtividade de óleo essencial nas respostas ao ácido fúlvico e ao extrato de alga. Nas aplicações foliares a tendência também foi igual ao rendimento, com os tratamentos intermediários de 250 mg kg<sup>-1</sup> se destacando, de forma positiva no ácido fúlvico e decrescendo a produtividade no tratamento com extrato de alga.

## 5.4 CONCLUSÕES

Pulverizações foliares e no solo com extrato de alga e ácido fúlvico aumentam a produção de massa seca de folhas e total em *Mentha canadensis*.

O rendimento de óleo essencial em *Mentha canadensis* L. aumenta com o uso de extrato de alga aplicado no solo a 500 mg L<sup>-1</sup> e com aplicações foliares de 50 e 500 mg L<sup>-1</sup>.

O uso de ácido fúlvico foliar a 250 mg L<sup>-1</sup> e extrato de alga favorecem a produtividade de óleo essencial de *Mentha canadensis* L.

## REFERÊNCIAS

ARANCON, N.Q., EDWARDS, C.A., LEE, S., BYRNE, R. Effects of Humic Acids from Vermicomposts on Plant Growth. **European Journal of Soil Biology**. v. 42, p. 65-69. 2005.

ARANCON, N.Q., EDWARDS, C.A., BABENKO, A., CANNON, J., GALVIS, P., METZGER, J.D. 2007. Influences of vermicomposts produced by earthworms and microorganisms from cattle manure, food waste, and paper waste on the growth and flowering of petunias in the greenhouse. **Applied Soil Ecology** v.39: p.91-99. 2008.

ATIYEH, R.M.; EDWARD, C.A.; ARANCON N.Q.; METZGER, J.D. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth; **Bioresource. Technology**, v. 84, p.7-14. 2002.

CASTRO, P. R. C. & VIEIRA, E. L. **Aplicação de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba. Agropecuária. 132p. 2001.

DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J. L.; ROSWALKA, L.; OLIVEIRA, M. de C.; BIZZO, R.; ALQUINI, Y. Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquatica* L. **Ciência e Natura**, v. 28, n. 1, p. 23-34, 2006.

EL-KELTAWI, N. E.; CROTEAU, R. Influence of applied cytokinins on growth and essential oil content of several members of the Lamiaceae. **Phytochemistry**, v. 26, n.4, p. 891-895, 1987.

EL-KELTAWI, N. E.; CROTEAU, R. Influence of ethephon and diaminozide on growth and essential oil content of peppermint and sage. **Phytochemistry**, v. 25, n.6, p. 1285-1288, 1986.

FAROOQI A.H.A.; SHARMA S.; Effect of growth retardants on growth and essential oil content in Japanese mint. **Plant growth regulation**. v. 7, p. 39-45, 1988.

KAUL, B.K.; KAPOOR, L.D. A preliminary study on the influence of gibberellic acid on *Mentha arvensis* Linn. var. *piperascens holmes* (Japanese mint) **Plant Sciences**. v. 61, n. 3, p. 135-141, 2004. Acessado em: 02/11/2010. <http://www.springerlink.com/content/730317876644645/>

LAWRENCE, B. M. **Mint : the genus mentha** / Brian M. Lawrence. Mints (Plants) I. Title. Taylor & Francis Group, LLC, 547p. 2007.

MASSETO, M. A. M. **Ácido giberélico e extrato de alga marinha na produtividade e composição do óleo essencial de lavanda (*Lavandula dentata* L.)** 95p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

MONTEIRO, R. **Desenvolvimento de Menta e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo.** 80 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2009.

NISSEN, O. **MSTAT-C a microcomputer for design, management, and analysis of agronomic research experiments.** Version 2.1 East Lansing: Michigan State University, 1993. 300p.

PANT, A.P.; RADOVICH, T.J.K.; HUE, N.V.; TALCOTT, S.T.; KRENEK, K.A. Vermicompost extracts influence growth, mineral nutrientes, phytonutrientes and antioxidant activity in pak choi (*Brassica rapa* cv. Bonsai, Chinese Group) grown under vermicompost and chemical fertiliser. **Journal Science Food Agriculture** published online in [www.interscience.wiley.com](http://www.interscience.wiley.com) DOI 10.1002/jsfa.3732. Acesso em: 01/11/2010.

PRAMANIK, P., G.K. GHOSH, P.K. GHOSAL AND P. BANIK, Changes in organic-C, N, P and K and enzyme activities in vermicompost of biodegradable organic wastes under liming and microbial inoculants. **J. of Bioresource Technology**. v.98, p. 2485-2494. 2007.

ROHLOFF, J.; DRAGLAND, S.; MORDAL, R., IVERSEN, T. Effect of harvest time and drying method on biomass production, essential oil, and quality of peppermint (*Mentha x piperita* L.) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 4143-4148, 2005.

SCAVRONI, J.; VASCONCELLOS, M. C.; VALMORBIDA, J.; FERRI, A. F.; MARQUES, M. O. M.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J. D. Rendimento e composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* L. submetida a aplicações de giberilina e citocinina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 4, p. 40-43, 2006.

SCHMIDT, R.E.; ERVIN; E.H.; ZHANG, X.; Questions and answers about biostimulants. In: Research / **GCM**. p. 91-94, 2003.

SINGH, P.; SRIVASTAVA, N.K.; MISHRA, A.; SHARMA, S. Influence of etherel and gibberelic acid on carbon metabolism, growth, and essential oil accumulation in spearmint. **Pthotosynthetica**. v.36, n.4, p. 509 – 517, 1999.

STORCK, R. C. **Sombreamento, ácido giberélico e extrato de alga no desenvolvimento e produção de óleos essenciais em Patchouli**. 98p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Trad. SANTARÉN et. al., – 3 ed. Porto Alegre : Artemed, 2004.

VASCONCELOS, A.C.F.; ZHANG, X.; ERVIN; E.H.; KIEHL, J.C. Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. **Sci. Agric. Piracicaba, (Braz.)**, v.66, n.3, p. 395 - 402, 2009.

ZHANG, X.; ERVIN, E. H.; SCHMIDT, R. E. Plant growth regulators can enhance the recovery of kentucky bluegrass sod from heat injury. **Crop Science**. v. 43, p. 952 – 956, 2003.

ZHANG, X.; ERVIN, E. H. Cytokinin containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping. **Crop Science** , v. 44, p.1-10, 2004.

## 6 BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE DE VAPOR E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.

### RESUMO

O óleo essencial de menta é composto por diversos constituintes químicos, sendo o monoterpeno mentol de grande interesse comercial para as indústrias alimentícias, farmacêuticas, higiene pessoal e de limpeza. Bioestimulantes são também chamados de “ativadores metabólicos” sendo definidos como materiais que aplicados em quantidades reduzidas, induzem o crescimento, o desenvolvimento vegetal, a tolerância ou resistência a estresses bióticos e abióticos, sem que se possa atribuir-lo à aplicação tradicional de nutrientes. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a influência dos bioestimulantes na produção de biomassa e rendimento de óleo essencial de *Mentha canadensis* L., comparar os métodos de extração de óleo essencial e pesquisar a extração de nutrientes NPK realizada pela cultura. O experimento foi conduzido a campo, em blocos ao acaso e esquema fatorial 5x2, com quatro repetições. Os cinco tratamentos testados foram: SA – sem adubação NPK, CA – com adubação NPK, AF – com adubação NPK + ácido fúlvico ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ ), EA – com adubação NPK+ extrato de alga ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ ), AF+EA – com adubação NPK + ácido fúlvico ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ ) + extrato de alga ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ ) e as duas épocas de colheita foram aos 90 dias após o transplante (AT) e aos 75 dias após brotação de poda (BP). Foram avaliados os parâmetros da massa seca de folhas, caules e total, relação massa seca de folhas e massa seca total. O óleo essencial foi hidrodestilado em aparato Clevenger e por destilador por arraste de vapor, por duas horas. Os teores de carbono, nitrogênio, fósforo e potássio foram determinados nos tecidos vegetais e na torta residual de destilação, hidrolato e água residual. A aplicação foliar conjunta de extrato de alga e de ácido fúlvico promove aumento na produção de massa seca. Os tratamentos com bioestimulantes isolados e as épocas de colheita não apresentaram diferença significativa na produção de biomassa nem no rendimento e produtividade de óleo essencial. O rendimento de óleo essencial na hidrodestilação foi maior do que na destilação por arraste de vapor. A extração de nutrientes foi superior na colheita de maio. Em dois ciclos de colheita de menta foram extraídos  $121,3 \text{ kg ha}^{-1}$  de nitrogênio,  $289 \text{ kg ha}^{-1}$  de potássio e  $29,1 \text{ kg ha}^{-1}$  de fósforo, presentes na torta residual de destilação. A devolução da torta residual de destilação na forma de cobertura morta viabiliza a manutenção da capacidade produtiva do solo, a produtividade da cultura.

Palavras chave: ácido fúlvico, extrato de alga, menta, nutrição mineral

## GROWTH PROMOTERS IN THE PRODUCTION OF ESSENTIAL OIL EXTRACTED BY HIDRODISTILLATION AND STEAM DISTILLATION AND NUTRIENT REMOVAL IN *Mentha canadensis* L.

### ABSTRACT

Mint essential oil is composed of various chemical constituents and the monoterpene of greatest commercial interest is menthol, used in the food, pharmaceutical, personal care and cleaning industries. Biostimulants are also called "metabolic activators" and are defined as materials used in small quantities, inducing growth, plant development, tolerance or resistance to biotic and abiotic stresses, without being able to assign it to the traditional application of nutrients. The aims of this work were: to evaluate the influence of biostimulators on *Mentha canadensis* L. biomass and oil production; compare the methods of essential oil extraction; study the nutrient extraction of NPK by the culture. The experiment was conducted under field conditions, on the UFPR Canguiri Experimental Station, with shoots from cuttings, in a randomized block factorial 5x2 arrangement with four replications. The five treatments were: NF – no fertilizer, WF - with NPK, FA - with NPK + fulvic acid (50 mg L<sup>-1</sup>) KE - with NPK + kelp extract (50 mg L<sup>-1</sup>), FA + KE - with NPK + fulvic acid (50 mg L<sup>-1</sup>) + kelp extract (50 mg L<sup>-1</sup>) and two harvest times: 90 days after planting (AP) and 75 days after regrowth (RG). Vegetative growth parameters were evaluated: leaves, stems and total dry mass, and leaves dry biomass /total dry mass index. The essential oil was extracted by hydrodistilled in Clevenger apparatus and by steam distillation for two hours. Carbon, nitrogen, phosphorus and potassium levels were determined in plant tissues, mint distillation waste, distillation wastewater and hidrolact. Plants sprayed with kelp extract and fulvic acid together promoted 15,6% higher dry mass. Isolated treatments and harvest dates showed no significant difference for dry mass, essential oil content and yield. Hydrodistillation provided higher essential oil yield than steam distillation. Superior nutrient uptake occurred when harvest was done in May. During two productive mint cycles 121,3 kg ha<sup>-1</sup> of nitrogen, 289 kg ha<sup>-1</sup> of potassium and 29,1 kg ha<sup>-1</sup> of phosphorus were exported from soil by the crop. The recycling of mint distillation waste on soil as mulching represents a practice that enables the maintenance of soil production capacity and the crop productivity.

**Key words:** fulvic acid, kelp extract, biomass

## 6.1 INTRODUÇÃO

A menta é uma cultura aromática que pelo processo de destilação de suas folhas, fornece óleo essencial. As indústrias farmacêuticas, cosmética, de cigarros e bebidas, de alimentos, de higiene pessoal e oral disputam o óleo essencial de menta (LAWRENCE, 2007).

A espécie *Mentha canadensis* L. apresenta elevado rendimento de óleo essencial e teor de mentol próximo de 90% (MONTEIRO, 2009). A produtividade de óleo essencial depende do produto da biomassa pelo rendimento de óleo essencial. Dessa forma, uma possível ação dos bioestimulantes tanto no metabolismo primário aumentando a biomassa, como no metabolismo secundário aumentando o rendimento e a síntese de constituintes de importância econômica poderia contribuir para o aumento da produtividade de óleo essencial e de mentol.

Além da aptidão genética para expressar as enzimas responsáveis pela rota biossintética, a produtividade de OE e dos seus componentes específicos depende da interação entre os fatores bióticos (seres vivos) e abióticos (clima e solo) (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

A ciência agrônômica estabeleceu com relativa precisão a ação dos macronutrientes NPK no metabolismo primário e por consequência a sua implicação específica nos fatores de crescimento vegetativo. A produção de biomassa é portanto, um dos componentes no cálculo da produtividade de óleo essencial. No entanto, o outro componente da produtividade de óleo essencial é o rendimento de óleo essencial e este é dependente do metabolismo secundário da planta que por sua vez é dependente de interações ambientais para efetuar a expressão gênica. A sintonia fina do equilíbrio nutricional que permita aumentar a produção de massa seca sem diminuir o rendimento de óleo essencial corroborando num aumento de produtividade de óleo essencial continua sendo um desafio para cada uma das espécies aromáticas.

Os bioestimulantes extrato de alga e ácido fúlvico apresentam em sua composição diversos reguladores de crescimento e são aplicados em baixas concentrações (ARANCON *et al.*, 2006; KHAN 2009; CRAIGIE, 2010). Substâncias promotoras do crescimento vegetal apresentam importância comercial na agricultura intensiva, em culturas de elevado valor comercial e no cultivo orgânico tendo seu



uso restringido em função do custo elevado (HAIDER *et al.*, 2009). Já os bioestimulantes contendo diversas substâncias reguladoras de crescimento podem representar uma estratégia menos onerosa para conciliar a produção de biomassa com a ativação de metabólitos secundários específicos aumentando o rendimento de óleo essencial.

Em trabalhos de pesquisa de óleos essenciais a hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger é uma metodologia padrão. No entanto, quando a pesquisa atinge uma escala piloto ou comercial, a necessidade de alterar a dimensão de escala de produção exige a extração de OE pela destilação por arraste de vapor. O rendimento e a composição do óleo essencial obtidos nestes dois processos podem variar em função das diferenças entre as propriedades físico-químicas e termodinâmicas específicas cada um.

Este trabalho investiga sua ação dos bioestimulantes, extrato de alga e ácido fúlvico, quando pulverizados isoladamente e em conjunto em duas épocas de colheita. Foram avaliadas a produção de biomassa, o rendimento e a produtividade de óleo essencial de *M. canadensis* L. Ainda neste estudo, são correlacionadas a extração de óleo essencial por hidrodestilação e por destilação por arraste de vapor, assim como a extração de nutrientes, analisando seus teores foliares, na torta residual de destilação e no hidrolato residual de destilação.

## 6.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado em outubro de 2009, na Estação Experimental do Canguiri – UFPR, no município de Pinhais, Região Metropolitana de Curitiba, localizado a 25°23.258' latitude Sul, 49°07.713' longitude Oeste, com 919 m de altitude. A região apresenta clima subtropical úmido meso-térmico. As condições climáticas durante o período de condução do experimento são descritas nas Figuras 1 e 2 (INSTITUTO TECNOLÓGICO SIMEPAR, 2010).

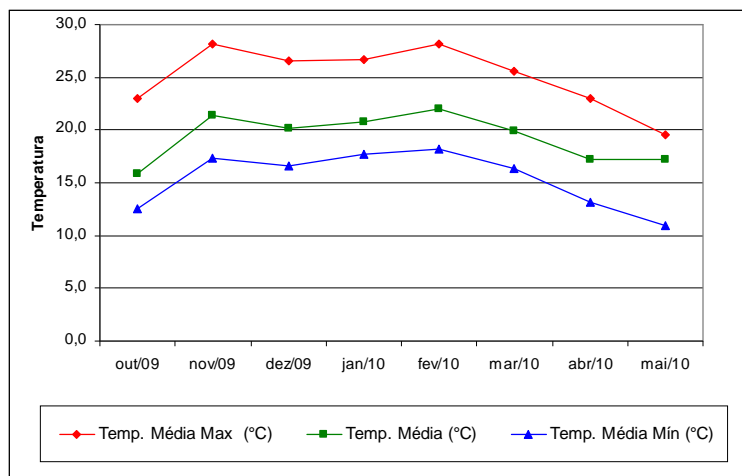


FIGURA 1 – Temperaturas médias máximas, mínimas e médias mensais, na região de Pinhais - PR durante o período de condução do experimento. Fonte: SIMEPAR

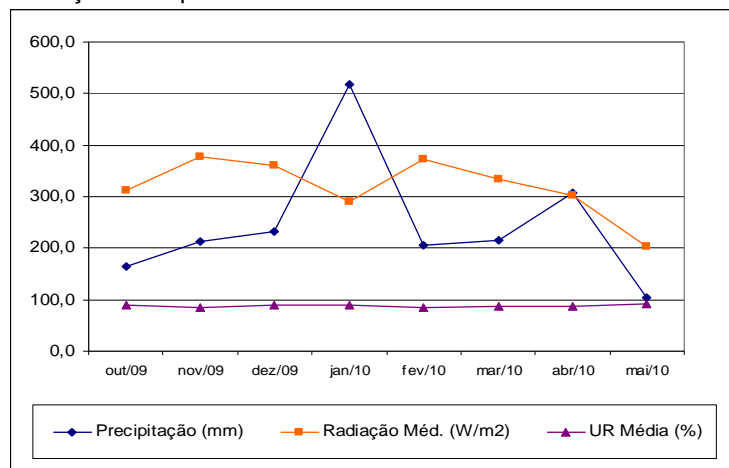


FIGURA 2 – Precipitação e umidade relativa média mensal e radiação média acumulada, na região de Pinhais - PR durante o período de condução do experimento. Fonte: SIMEPAR.

O solo da área experimental é um cambissolo háplico (EMBRAPA, 1999), cuja análise com as características físicas e químicas é representada nas Tabelas 1 e 2. A metodologia de amostragem de solo foi realizada conforme a recomendação da Sociedade Brasileira de Ciência de Solo – SBCS, (2004), de 0 – 20 cm de profundidade. A amostra foi analisada no Laboratório de Biogeoquímica e Nutrição Mineral de Plantas do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola (DSEA) da UFPR, utilizando a metodologia de PAVAN *et al.* (1992) e pode ser observada na Tabela 1. A correção de solo não se fez necessária, e a adubação foi realizada com base na recomendação da Sociedade Brasileira de Ciência de Solo – SBCS (2004),

na proporção de 20 kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 40 kg ha<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>O – 30 kg ha<sup>-1</sup>, usando-se os fertilizantes: uréia; super fosfato triplo e cloreto de potássio na cova de plantio. O preparo do solo foi mecanizado, com enxada rotativa.

TABELA 1- Análise de solo da área experimental, amostra coletada à profundidade de 0-20 cm. Pinhais-PR, 2009.

Fertilizante 14-14-14, 2000g													
pH		Al <sup>+3</sup>	H <sup>+1</sup> Al <sup>+3</sup>	Ca <sup>+2</sup>	Mg <sup>+2</sup>	K <sup>+</sup>	SB	T	P	C	V	Ca/ Mg	Argila
CaCl <sub>2</sub>	SMP	Cmol <sub>c</sub> /dm <sup>-3</sup>							mg/dm <sup>-3</sup>	g/dm <sup>-3</sup>	%		g/kg <sup>-1</sup>
5,7	6,1 0	0,00	4,60	5,90	3,40	1,05	10,35	14,95	91,70	37,4	69	1,7	550,0

TABELA 2- Análise de solo da área experimental, nitrogênio e micronutrientes, ferro, manganês, cobre e zinco. Amostra coletada à profundidade de 0-20 cm. Pinhais-PR, 2009.

N	Fe	Mn	Cu	Zn
mg / kg				
2,1	1,07	27,6	1,0	29,2

### Obtenção de material vegetal e preparo de mudas

O material vegetal usado neste experimento foi a espécie *Mentha canadensis* L. proveniente da EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF. As mudas foram propagadas por estaquia, usando-se pedaços de caule de 5 a 10 cm como material propagativo, colocados em bandejas de tubetes, contendo solo da própria área experimental de plantio. Foram mantidas em condições de casa-de-vegetação durante aproximadamente 40 dias, com sistema de irrigação por aspersão diária, até o enraizamento das estacas.

TABELA 3 - Tratamentos usados no experimento de *Mentha canadensis* L. Pinhais-PR, 2009.

Tratamento	Manejo
SA	Sem adubação
CA	Adubação (NPK)
CA + AF	Adubação (NPK) + ácido Fúlvico (50 mg L <sup>-1</sup> )
CA + EA	Adubação (NPK) + extrato de Alga Marinha (50 mg L <sup>-1</sup> )
CA + EA + AF	Adubação (NPK) + ácido Fúlvico (50 mg L <sup>-1</sup> ) + extrato de alga (50 mg L <sup>-1</sup> )

### Implantação e condução do experimento

A Figura 3 apresenta o cronograma esquemático da implantação e manejo. O experimento foi conduzido em delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial 5 x 2, referentes a 5 tratamentos, conforme apresentados na Tabela 3 e duas épocas de colheita: aos 90 dias após o transplante (AT) e aos 75 dias após a brotação de poda (BP), respectivamente, com 4 repetições. Foram realizadas quatro aplicações de bioestimulantes no ciclo de crescimento após o transplante (AT) e três no ciclo da brotação de poda (BP), a intervalos de aproximadamente 15 dias. O espaçamento entre as parcelas experimentais foi de 2m, de forma a permitir o controle de invasoras mecanizado nas entrelinhas dos canteiros, sendo o mesmo realizado de forma manual, semanalmente, nas parcelas experimentais. A irrigação foi feita por aspersão em dias alternados quando houve ausência de precipitação. Foram realizadas aplicações foliares semanais de calda bordalesa, inicialmente de 1 mL L<sup>-1</sup> e a partir de dezembro, com a intensificação da precipitação de 2 mL L<sup>-1</sup>, para controle preventivo de ferrugem (*Puccinia menthae*).

### Aplicação de bioestimulantes

O ácido fúlvico aplicado foi proveniente da extração da Leonardita Australiana, fornecido pela empresa Nutriplant®, com concentração de 10% na formulação. A formulação sólida de extrato de alga marinha *Ascophyllum nodosum* foi obtida da Acadian Seaweeds®.

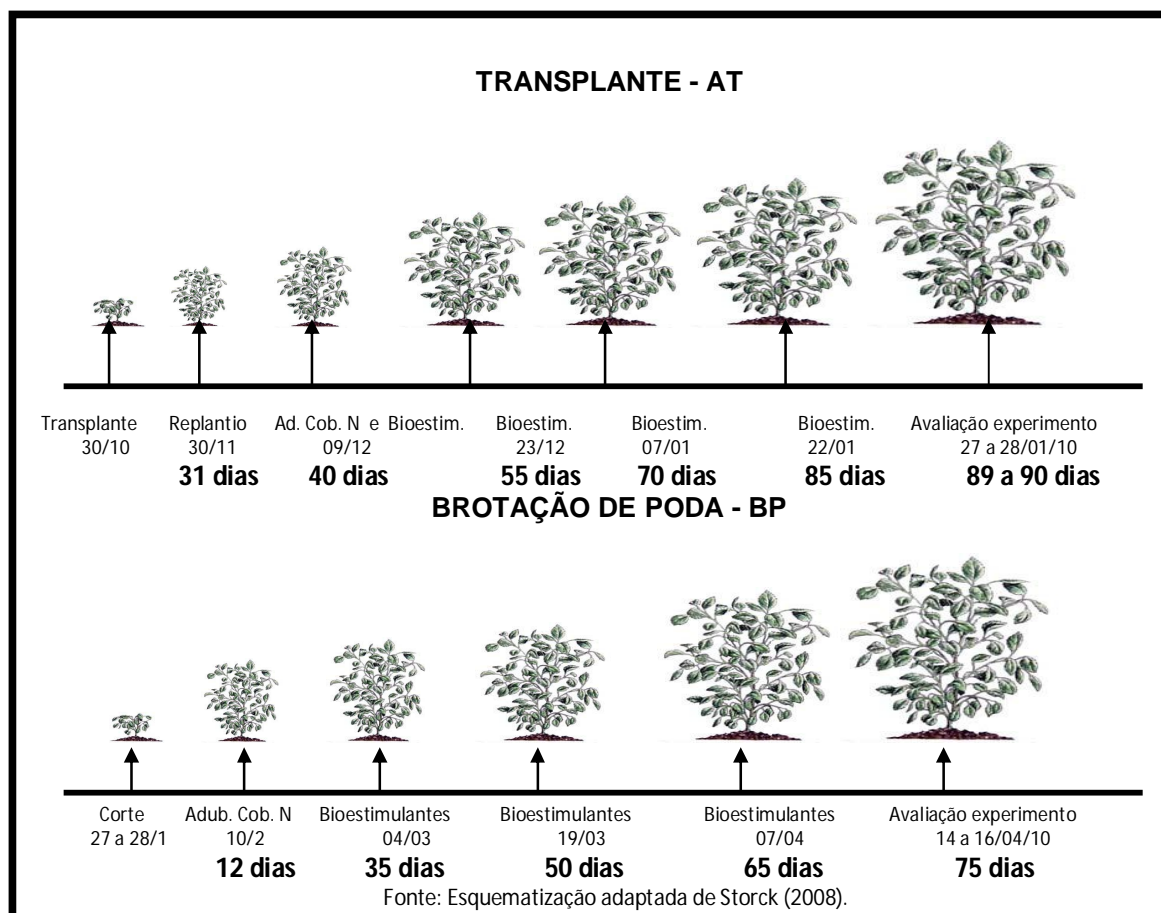


FIGURA 3 - Cronograma esquemático de manejo da cultura e aplicação de bioestimulantes após o Transplante (AT) e após a brotação de poda (BP).

A aplicação dos bioestimulantes foi realizada com equipamento de pulverização pressurizado por  $\text{CO}_2$  com vazão de  $100 \text{ ml min}^{-1}$  por bico e pressão constante (50 Psi), segundo esquema apresentado nas Figuras 3, 4A e 6A, de forma a molhar a área foliar sem causar escorrimento, sendo feita a calibração de cada pulverização em função do tempo de pulverização. Portanto, as vazões de pulverização foram crescentes, usando-se  $27,8 \text{ L ha}^{-1}$  nas primeiras aplicações após o transplante e brotação de poda,  $55,6 \text{ L ha}^{-1}$  nas segundas pulverizações e  $111,2 \text{ L ha}^{-1}$  nas duas últimas pulverizações após o transplante e na última após a brotação de poda, sempre em função do estágio de desenvolvimento vegetativo e do aumento da área foliar. De forma a evitar o contato dos produtos com o tratamento do lado foram usadas lonas de plástico isolando os tratamentos laterais, nos dias em que havia vento. (Figura 4C).

Foram instaladas 20 parcelas experimentais cada uma medindo 5,0 x 1,0 m (5m<sup>2</sup>). Cada parcela recebeu 48 plantas, com espaçamento de 0,60 x 0,15, correspondendo as 0,09 m<sup>2</sup> planta<sup>-1</sup>, conforme demonstrado nas Figuras 4B e 4D. Foram usadas 9 plantas úteis para amostragem, delimitada por um quadrato de canos de PVC de 1,40 x 0,45 m, fazendo-se os cortes a 10 cm do solo usando tesoura de poda, conforme Monteiro (2009).

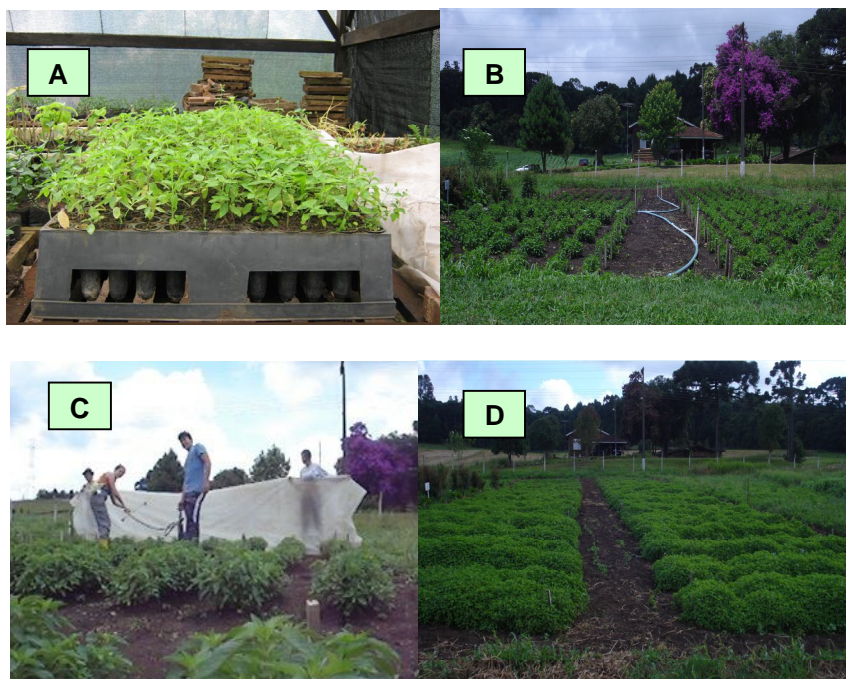


FIGURA 4 - A- Muda de estaquia em tubetes, B-Estádio inicial da cultura de Menta, C- Pulverização de bioestimulantes, como proteção contra deriva causada pelo vento, D- Estádio de colheita (abril-2010)

### **Extração de óleo essencial**

#### **Extração de óleo essencial por hidrodestilação**

As extrações do óleo essencial por hidrodestilação foram realizadas no Laboratório de Plantas Aromáticas da Estação Experimental do Canguiri – UFPR, em Pinhais, aos 90 dias após o transplante (janeiro) e aos 75 dias após a rebrota (maio).



FIGURA 5 - Hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger modificado

Foram destiladas 100g de tecido foliar fresco, em aparelho graduado Clevenger, com balão volumétrico de 2L, durante 2 horas (Figura 5). O rendimento de óleo essencial foi quantificado através de micropipeta de precisão.

### **Destilação por arraste a vapor**

As destilações por arraste foram realizadas no mesmo local e épocas da hidrodestilação, em destilador piloto da marca Kohls® conforme demonstrado nas figuras 6A, 6B e 6C. Cada dorna de destilação por arraste recebeu 20 kg de massa fresca de planta inteira, cortada a 10 cm do solo e dispostas na dorna de 350 L sem causar compactação, até 10 cm da borda superior do cesto. A massa fresca da dorna correspondeu à colheita de 3 canteiros de 5,0 x 1,0m, um de cada bloco, portanto para cada época de avaliação foram utilizados 6 canteiros por tratamento, cada um de um bloco. As destilações foram conduzidas à temperatura de 100°C na câmara de destilação com pressão de 3 atm, durante 2h. Foram realizadas duas destilações para cada tratamento, em cada época, num total de 10 destilações por arraste por época de colheita.





FIGURA 6 - **A-** Destilação por arraste de vapor, **B-** Finalização da destilação – descarga da dorna, **C-** Caldeira de vapor, **D-** Torta residual da destilação.

### Análise de óleos essenciais

**Reagentes:** Como solvente espectroscópico foi usado diclorometano (Tedia, Fairfield, USA). Os demais reagentes padrão foram adquiridos da Aldrich (Milwaukee, USA).

**Análise dos óleos essenciais:** Os óleos essenciais foram analisados pela Embrapa – Agroindústria de Alimentos - RJ, por meio de cromatógrafo a gás Agilent (Palo Alto, USA) 6890N equipado com coluna capilar de sílica (HP5, 25m X 0.32mm X 0.25 $\mu$ m) com 5% fenil e 95% metilsilicone. A temperatura do forno foi de 60°C a 240°C na razão de 3°C/min, sendo o hidrogênio usado como gás de arraste (1.5 mL/min). O óleo foi diluído a 1% em diclorometano e 1.0 $\mu$ L da solução foi injetada em modo split (1:100). O injetor foi mantido a 250°C e o detector (FID) a 280°C.

A espectrometria de massas (CG/EM) foi obtida em sistema Agilent 5973N operado no modo de ionização eletrônica (IE) a 70 eV com amplitude de 40-500  $m/z$ . A taxa de amostragem foi de 3.15 scans/s. A fonte iônica foi mantida a 230°C, a analisador de massa a 150°C e a linha de transferência a 260 °C. O detector de massa foi acoplado ao cromatógrafo a gás Agilent 6890 com coluna capilar de sílica de baixa vazão (HP-5MS, 30m X 0.25mm X 0.25 $\mu$ m) preenchida com 5% fenil e 95%



metilsilicone. Hélio foi usado como gás de arraste a 1.0 mL/min. Os índices de retenção linear (IRL) foram mensurados (DOOL & KRATZ, 1963) pela injeção de série de n-alcenos (C<sub>7</sub>-C<sub>26</sub>) na mesma coluna e nas mesmas condições da análise de CG.

A identificação dos constituintes do óleo foi baseada no banco de dados da 6 ed. da biblioteca Wiley de espectros de massa e pela comparação com os IRL de referência (ADAMS, 2007). Soluções padrão de mentol e mentona foram injetadas para confirmação.

### **Variáveis analisadas**

A massa seca de folhas (MSF), caules (MSC) e total (MST) e a base seca, foi determinada após secagem das amostras a 65°C em estufa com ventilação forçada (FANEM® - Mod. 320 SE) até atingirem massa constante.

O rendimento foi calculado em  $\mu\text{L g}^{-1}$  de MS. A produtividade de OE foi determinada a partir do produto do rendimento de OE em  $\mu\text{L g}^{-1}$  de massa fresca corrigido para base seca pela massa seca de folhas por hectare.

### **Análise de nutrientes**

As análises de nutrientes foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica do Departamento de Ciência do Solo – UFPR, a partir da metodologia sugerida por MARTINS & REISSMANN (2007). As avaliações foram realizadas com o material da primeira colheita, aos 90 dias após o plantio (janeiro) e da segunda colheita, aos 75 dias após a brotação de poda (abril). Foram feitas determinações de N, C, relação C/N, P e K da folhas e da torta residual da destilação de menta e análise de potássio do hidrolato e da água residual da destilação. Na destilação por arraste de vapor a massa fresca era composta de 4 canteiros, portanto, para a determinação dos teores elementares da torta residual de destilação só se dispunha de duas amostras por tratamento, e por época de colheita não permitindo uma análise estatística.

As amostras foliares foram secas a 65°C em estufa com ventilação forçada (FANEM® - Mod. 320 SE) até atingirem massa constante. O material seco foi triturado em moinho de café com lâminas de inox para ser submetido à digestão

para a determinação de P e K. Amostras de aproximadamente 1 g de pó de tecido vegetal foram pesadas em balança analítica. O material pesado foi colocado na mufla a 500°C, durante 3 horas. Após o resfriamento dos cadinhos, adicionou-se 5 gotas de HCl a 3N e recolocou-se os mesmos na mufla por mais 3 horas a 500°C (Figura 7A). Após o resfriamento, adicionou-se 10 ml de HCl a 3N em cada amostra e estas foram levadas para aquecimento entre 70 a 80°C, por aproximadamente 10 minutos. Após a retirada das amostras da placa aquecida o material foi filtrado em balões volumétricos de 50 mL com filtro de papel faixa azul (Figura 7B), sendo o volume posteriormente completado com água deionizada até o menisco. As soluções foram colocadas em frascos de polietileno fechados, identificadas e reservadas para as análises.

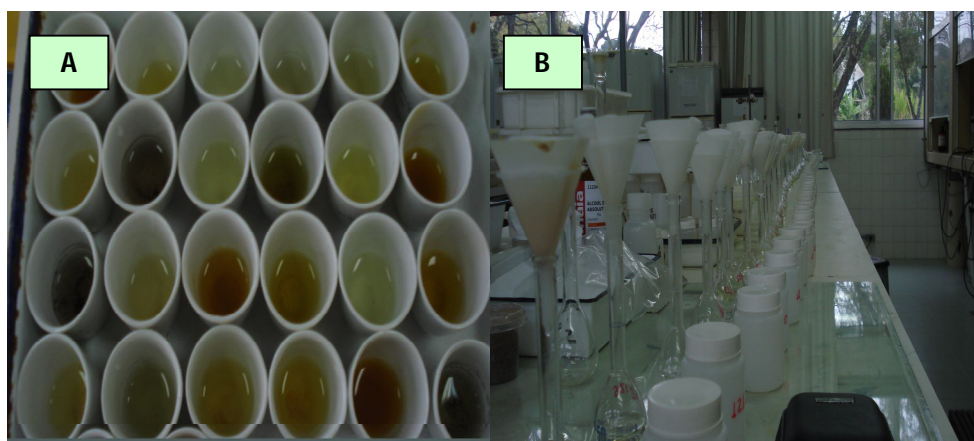


FIGURA 7- Determinação de P e K. A- Amostras saídas da mufla em cadinhos com HCl. B- Filtração da extração

As amostras processadas foram diluídas de 1:4 para a análise de fósforo sendo realizada a curva de calibração com 4 pontos (0, 5, 15, e 30 ppm), sendo adotada a calibração a 90 ppm. As leituras foram realizadas em Aparelho UV espectrofotômetro (Schimatzu®).

Para as análises de potássio foi feita a diluição de 1:25 e a calibração do aparelho FC-180 CELM sendo adotada a calibração a 90 ppm. para as amostras foliares, de torta de destilação e 5 ppm para as amostras de hidrolato.

As análises de teor de carbono, nitrogênio e da relação C/N foram realizadas por via seca, em equipamento VarioEL® III, CHNOS Elemental Analyzer e

processadas pelo programa Solobioma II. As amostras usadas foram de aproximadamente 15 mg, acondicionadas em papel de estanho. Para cada bateria de análises foram realizadas 3 calibrações com 5 mg de acetanilida no início e mais uma no final.

### **Análises estatísticas**

A análise de variância foi realizada com o auxílio do programa MSTAT-C (NISSEN, 1993), sendo as médias testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## **6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.3.1 Desenvolvimento vegetativo**

As variáveis do desenvolvimento vegetativo massa seca de folhas (MSF), massa seca de caules (MSC), massa seca total (MST) e relação MSF/MST são apresentadas na Tabela 4. A massa fresca da primeira colheita apresentou teor de umidade médio de 80% e na segunda colheita de 79%.

A massa seca de folhas (MSF) não apresentou diferença significativamente para os tratamentos nem para a interação entre os fatores, apresentando significância entre os valores dos dois períodos de colheita. Estes valores são inferiores aos observados por Monteiro (2009) em Pinhais, com a mesma espécie e espaçamento, em colheita de abril aos 90 dias, que obteve 2733,8 kg ha<sup>-1</sup> de MSF e 0,61 de relação MSF/MST. Aflatuni *et al.* (2006) em experimento com quatro espécies de *Mentha* inclusive duas *M. canadensis*, obtiveram massa seca de folhas e total inferiores apesar da relação MSF/MST terem sido maiores. A maior massa seca de caules no tratamento EA + AF foi o fator responsável pela diferença apresentada na massa seca total.

A produção de massa seca total - MST diferiu significativamente entre os tratamentos e entre os períodos, mas não apresentou interação entre os fatores. O menor valor de MST foi observado no tratamento sem adubação – AS, porém, sem diferença significativa em relação à adubação com NPK dos demais. O aumento da

biomassa em função da adubação nitrogenada tem sido constatado por vários autores. Castro (2007) em experimento com três espécies de menta no Paraná e por Zheljazkov *et al.* (2010a) trabalhando com *M. x piperita* L. no Mississippi, obtendo também massa seca total superior na primeira colheita. O fornecimento do nitrogênio à planta favorece a produção de biomoléculas fundamentais, como proteínas e aminoácidos, além de ser o constituinte das moléculas de clorofila, justificando um maior crescimento vegetativo (DONATO *et al.*, 2004). Ram & Kumar (1997) também correlacionaram o aumento da massa seca total com doses crescentes de adubação nitrogenada em *M. arvensis*. Neste experimento, a inexistência de diferenças significativa de MST entre os tratamentos sem adubação – SA e com adubação – CA pode ser justificada pela elevada fertilidade natural do solo em função da adubação residual proveniente da atividade anterior de cultivo de olerícolas.

TABELA 4 – Médias de massa seca de folhas (MSF), massa seca de caules (MSC), massa seca total (MST) e relação MSF/MST, em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA + AF – com adubação e AF; CA + EA – com adubação e EA; CA + EF + EA – com adubação, ácido fúlvico (AF) e extrato de alga (EA), Pinhais, 2010.

Tratamento	MSF kg ha <sup>-1</sup>	MSC kg ha <sup>-1</sup>	MST kg ha <sup>-1</sup>	MSF/MST
SA	1102,51 ns	1233,49 b	2336 b	0,469 ns
CA	1373,75	1328,25 b	2702 ab	0,514
CA + AF	1462,05	1295,95 b	2758 ab	0,543
CA + EA	1271,50	1213,50 b	2485 ab	0,517
CA + EA + AF	1499,38	1623,62 a	3123 a	0,491
CV%	21,46	21,79	18,14	13,20

As letras comparam as médias na coluna. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%. ns – diferença não significativa.

Os tratamentos CA, CA + AF e CA + EA não apresentaram diferença significativa, o que sugere que a aplicação de AF e EA não contribuiu para o aumento da biomassa. Já a sua aplicação conjunta favoreceu a massa seca total que foi maior (3123 kg ha<sup>-1</sup>) no tratamento CA + AF + CA + EA. O tratamento conjunto de ácido fúlvico e extrato de alga (CA + EA + AF) resultou em aumento da MST em relação ao tratamento com adubação (CA). Esta ação sinérgica potencializada, entre os bioestimulantes extrato de alga e ácido húmico, é citada por Schmidt *et al.* (2003) quando a resposta de aumento de massa seca de raiz, umidade da folha e vitamina E de grama de Kentucky, sob stress hídrico, foram significativamente superiores no tratamento conjunto em relação às aplicações isoladas. Scavroni *et al.* (2006) relatam o aumento da massa seca em *M. piperita* L.

com a aplicação da giberelina sintética ( $GA_3$ ) e com a citocinina sintética (BAP), o que não ocorreu no tratamento com extrato de alga (EA), onde os dois compostos, giberelina e citocinina, estão presentes.

A aplicação de ácido fúlvico neste experimento não confirmou os relatos de aumentos de massa seca aérea e de raiz, de altura das plantas e de área foliar em tomate e pepino descritos por Atiyeh *et al.* (2002) com a aplicação de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto. Após isolarem hormônios de crescimento vegetal, como AIA, giberelinas e citocininas em vários vermicompostos, os autores avaliam que entre as diversas hipóteses propostas para elucidar os mecanismos das substâncias húmicas na estimulação do crescimento vegetal, os mais convincentes são a sua ação “direta” de natureza hormonal e em pequenas quantidades e a “indireta” pela melhoria da dinâmica de extração e translocação de nutrientes. Arancon *et al.* (2006) confirmaram estas hipóteses observando aumento de massa seca de raiz e de parte aérea em *Tagetes patula*, *Capsicum annuum*, *Fragaria ananassa* e *Lycopersicum esculentum* com a aplicação de ácidos húmicos comerciais e de vermicompostos em concentrações entre 50 a 500 mg kg<sup>-1</sup>, sendo que concentrações acima de 500 mg kg<sup>-1</sup> inibem o crescimento vegetal. Outra teoria para justificar a promoção do crescimento vegetal pelos ácidos húmicos foi postulada por Façanha *et al.* (2002) que comprovaram a influência dos ácidos húmicos, principalmente o fúlvico no aumento do gradiente eletroquímico gerado pela H<sup>+</sup>-ATPase da membrana plasmática, aumentando a sua plasticidade, permitindo seu alongamento e promovendo o crescimento vegetal. Neste experimento, estes mecanismos podem ter favorecido a maior massa seca de caules do tratamento EA+AF, que implicaram na maior MST.

A aplicação foliar de extrato de alga - EA não apresentou diferença significativa na produção de massa seca total em relação ao tratamento com adubação apresentando uma das menores MST na soma das duas colheitas, só não sendo inferior ao tratamento sem adubação - SA. Khan *et al.* (2009) em revisão sobre extrato de alga descrevem os resultados de inúmeros trabalhos onde houve aumento do sistema radicular pela presença de AIA e favorecimento do crescimento através do aumento da taxa de fotossíntese, pela ação anti-oxidante de betaínas sobre as moléculas de clorofila. No entanto, é salientado que a concentração de EA

representa um fator crítico na efetivação dos seus efeitos, aliado ao fato de que freqüentemente plantas não sujeitas a estresses não apresentam resposta à aplicação.

TABELA 5. Médias de massa seca de folhas (MSF), massa seca de caules (MSC), massa seca total (MST) e relação MSF/MST, na 1ª e 2ª colheitas, Pinhais, 2010.

Épocas	MSF kg ha <sup>-1</sup>	MSC kg ha <sup>-1</sup>	MST kg ha <sup>-1</sup>	MSF/MST
1a colheita (jan)	1473,12 a	1672,78 a	3145,9 a	0,46255 b
2a colheita (abr)	1210,56 b	1005,24 b	2215,8 b	0,55111a

As letras comparam as médias na coluna. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 1%.

A Tabela 5 apresenta os resultados das variáveis do desenvolvimento vegetativo nas duas colheitas, onde se observa que os resultados da colheita de janeiro são significativamente maiores para MSF, MSC e MST. Somente na relação MSF/MST esta tendência foi invertida.

A diferença de resultados dos tratamentos entre as duas colheitas podem estar correlacionada com as condições ambientais diversas nas duas épocas com maior temperatura, precipitação, fotoperíodo e intensidade luminosa no primeiro ciclo de plantio (1ª colheita) e a redução dessas condições no ciclo da rebrota (2ª colheita) (SANGWAN *et al.*, 2001). Como verificado por Farooqi *et al.* (1999), a altura da planta é maior em condições de dias longos apresentando correlação negativa com relação folha/caule ( $r=0,583$ ) comprovada pela menor ramificação, como ocorreu neste experimento. Esta influência ambiental pode ter favorecido o crescimento vegetativo (MST) na 1ª colheita, aliado ao fato de que a 2ª colheita teve apenas 75 dias de ciclo vegetativo contra 90 dias da 1ª colheita. A mesma constatação foi feita por Kofidis *et al.* (2004) com *M. spicata* na Grécia, Monteiro (2009) e Deschamps *et al.* (2008) no Paraná em relação à massa seca das colheitas de verão (DL - dias longos) sendo superiores às do outono.

Estes fatores aliados à constatação da alteração da estrutura do dossel das plantas na 2ª colheita também foram identificados por Zheljazkov *et al.* (2010 b) para justificar a menor MST no corte da rebrota. Como aconteceu neste experimento e ilustrado pela relação de MSF/MST menor na primeira colheita, os autores observaram que o aumento da densidade populacional em função da rebrota dos

estolões na segunda colheita, resultou além do decréscimo de ramificação na alteração da taxa de folhas jovens e folhas velhas.

### 6.3.2 Extração de óleo essencial por hidrodestilação em Clevenger

O rendimento apresentou significância na interação entre tratamentos e períodos. Na tabela 6 observa-se que o rendimento diferiu significativamente entre os tratamentos, sendo aproximadamente 100% maior no tratamento sem adubação – SA quando comparado com os demais. Revisando diversos autores Gobbo-Neto & Lopes (2007) informam que vários relatam situações de estresse nutricional como sendo causa de aumento da concentração de metabólitos secundários. No entanto, na segunda colheita não houve essa diferença. Este tratamento apresentou comportamento oposto aos demais na comparação entre as duas colheitas. As diferenças das condições ambientais da cultura até à primeira colheita e no período de brotação de poda até à segunda colheita (Figuras 1 e 2) podem ter sido a causa do comportamento da testemunha AS – sem adubação. Também Castro (2007) constatou redução de 24% no rendimento de óleo essencial em função da adubação nitrogenada na cultivar de *M. x piperita* cv “grapefruit mint”. No entanto, Zheljazkov *et al.* (2010 a) verificaram redução variável entre 48 e 50% no rendimento de *M. x piperita* das plantas sem N em relação às que receberam 80 kg ha<sup>-1</sup>.

Em hidroponia, Rodrigues *et al.* (2004) verificaram que concentrações elevadas de fósforo (24 e 30 mg L<sup>-1</sup>) promoveram aumentos na massa fresca e seca da planta, porém, reduziram os teores de óleo essencial. Valmorbidia *et al.* (2006) não verificaram influência dos níveis de potássio no rendimento do óleo essencial. Em função dos teores muito elevados de P e K no solo do experimento, estes elementos não foram fatores limitantes do rendimento, porém na segunda colheita a diferença entre o tratamento SA e os demais não ocorreu provavelmente em função da exportação de nutrientes ocorrida na primeira colheita. Todos os tratamentos, nas duas colheitas apresentaram rendimento de óleo essencial superiores aos obtidos por Monteiro (2009) com a mesma espécie e no mesmo local, colhida aos 90 dias (35,9 µl g<sup>-1</sup> MS).

TABELA 6 - Rendimento de óleo essencial ( $\mu\text{l g}^{-1}$  MS) por hidrodestilação em Clevenger nos tratamentos, na 1ª e 2ª colheitas, em Pinhais – PR, 2010.

Tratamento	1ª colheita	2ª colheita
SA	105,20 Aa	60,13 Ba
CA	52,54 Bb	59,60 Aa
CA + AF	43,46 Bb	57,37 Aa
CA + EA	47,92 Bb	67,96 Aa
CA + EA + AF	49,62 Bb	66,60 Aa

CV% = 30,94

As letras minúsculas comparam as médias na coluna e as letras maiúsculas comparam as médias na linha. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

O rendimento de óleo essencial médio foi maior na segunda colheita ( $62,33 \mu\text{l g}^{-1}$ ) do que na primeira ( $59,75 \mu\text{l g}^{-1}$ ). As diferentes condições ambientais citadas acima para esclarecer os resultados das variáveis de massa seca, também podem ter sido determinantes no rendimento. Farooqi *et al.* (1999) relatam o aumento de 47% no teor de óleo essencial em condições de dias curtos quando comparados com dias normais, constatando ainda uma incorporação de carbono no óleo essencial 58% maior.

TABELA 7 - Produtividade de óleo essencial ( $\text{L ha}^{-1}$ ) por hidrodestilação em Clevenger em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA + AF – com adubação e AF; CA + EA – com adubação e EA; CA + EF + EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga em Pinhais – PR, 2010.

Tratamento	1ª colheita	2ª colheita	Total
SA	97,31 ns	69,35 ns	166,65 ns
CA	82,56	72,07	154,63
CA + AF	71,30	72,48	143,78
CA + EA	63,81	81,78	145,59
CA + EA + AF	88,37	79,88	168,25

ns – diferença não significativa CV% = 20,63

A produtividade de óleo essencial (Tabela 7) não diferiu de forma significativa, para nenhum dos fatores, nem na interação entre os fatores. A produtividade de óleo essencial obtida por Monteiro (2009) nas condições citadas acima foi significativamente superior à média das duas colheitas em todos os tratamentos deste experimento ( $199,5 \text{ L ha}^{-1}$ ) em função da maior massa seca de folhas que são a parte de interesse comercial em *Mentha* por serem os órgãos onde predominam os tricomas glandulares peltados que são as estruturas responsáveis pela produção de óleo essencial (DESCHAMPS *et al.*, 2006). A menor proporção de folhas em relação aos caules neste trabalho também contribuiu para esta diferença.



Valores de produtividade de óleo essencial são citados em trabalhos recentes, como em Zheljazkov *et al.* (2010 a) que relatam produtividade de óleo de 122 kg ha<sup>-1</sup> em *Mentha x piperita* L. em duas colheitas e Zheljazkov *et al.* (2010 b) obtiveram 105 e 87 kg ha<sup>-1</sup> em *Mentha x gracilis* “Scotch” e *Mentha spicata* Native, respectivamente, no Mississippi. Anwar *et al.* (2010) relatam valores que variam de 143,1 a 329,3 L ha<sup>-1</sup> obtidos com *Mentha arvensis* L. na Índia, superiores aos obtidos neste trabalho. É importante salientar que todos os autores trabalharam com extração por hidrodestilação em Clevenger.

### 6.3.3 Extração de OE pela destilação por arraste a vapor

Os resultados de rendimento e produção de óleo essencial na destilação por arraste de vapor apresentaram interação entre tratamento e épocas podendo ser observados nas tabelas 8 e 9, respectivamente. Na variável rendimento a aplicação com extrato de alga apresentou o maior valor absoluto na colheita de abril, sendo em janeiro foi superior em relação ao tratamento com adubação (CA), enquanto que em abril não houve diferença. Scravoni *et al.* (2006) submeteram *M. piperita* L. a aplicações de citocininas e giberelinas, substâncias presentes no extrato de alga e não constataram diferenças no rendimento de óleo essencial, porém sua composição foi alterada.

TABELA 8 - Rendimento de óleo essencial em destilação por arraste a vapor (µl g<sup>-1</sup> MSF), em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA + AF – com adubação e AF; CA +EA – com adubação e EA; CA +EF + EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.

Tratamento	Jan	Abr
SA	53,7 Aa	38,0 Bb
CA	34,6 Bc	55,6 Aa
CA + AF	41,0 Abc	14,9 Bc
CA + EA	46,7 Bab	57,1 Aa
CA + EA + AF	38,2 Bbc	45,5 Ab
CV% = 21,81		

As letras minúsculas comparam as médias na coluna e as letras maiúsculas comparam as médias na linha. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%. CV%: 21,81

O efeito inibidor no rendimento do tratamento com ácido fúlvico ficou evidente na colheita de abril quando comparado com o rendimento do tratamento com adubação – CA, o que não aconteceu na colheita de janeiro, quando o rendimento aumentou em relação ao tratamento CA. O ácido fúlvico em uso conjunto com EA também teve efeito inibidor na média de rendimento de óleo da colheita de abril.

Esta variação de efeitos dos tratamentos extrato de alga e ácido fúlvico entre as colheitas pode ser devida à delicada interação com os fatores ambientais climáticos distintos que influenciam na regulação da produção de óleo essencial e o metabolismo vegetal (GOBBO-NETO e LOPES, 2007 e KHAN *et al.*, 2009).

TABELA 9 - Produtividade de óleo essencial ( $L\ ha^{-1}$ ) em destilação por arraste, em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA +AF – com adubação e AF; CA +EA – com adubação e EA; CA + EF + EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.

Tratamento	Jan	Abr
SA	23,08 <b>Ab</b>	24,10 <b>Ab</b>
CA	23,99 <b>Bb</b>	37,70 <b>Aa</b>
CA + AF	31,43 <b>Aa</b>	10,33 <b>Bc</b>
CA + EA	28,57 <b>Bab</b>	38,29 <b>Aa</b>
CA+ AF + EA	32,13 <b>Aa</b>	30,06 <b>Ab</b>
<b>CV% = 22,33</b>		

As letras minúsculas comparam as médias na coluna e as letras maiúsculas comparam as médias na linha. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

Na primeira colheita a maior produtividade de óleo essencial foi verificada nos tratamentos CA+EA+AF e CA + AF. No caso de CA+EA+AF isso é resultado da elevada MST. Na colheita de abril o tratamento com extrato de alga obteve o maior valor.

Em sites comerciais e governamentais da Índia os índices de produtividade de óleo essencial em destilação por arraste relatados são de  $100\ L\ ha^{-1}$  segundo o Multi Commodity Exchange of India Ltd. e de 86 a  $106\ L\ ha^{-1}$  para a cultivar Shivalik, que vem sendo substituída pelas cultivares Himalaya, 125 a  $138\ L\ ha^{-1}$  e Kosi com 140 a  $176\ L\ ha^{-1}$  segundo Sushil Kumar do Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants (CIMAP) – Índia.

Apesar do cálculo de produtividade de óleo essencial ter sido realizado pelo produto da massa seca de folhas (local de produção do óleo essencial) pelo rendimento, na comparação dos resultados das diferentes destilações e épocas deste experimento, a extração por hidrodestilação em Clevenger resultou em valores superiores aos da extração por arraste. Esta diferença pode ser atribuída a diferenças experimentais, pois na avaliação da hidrodestilação foram consideradas 4 blocos homogêneos para análise enquanto que para a destilação por arraste, por necessidade de volume de massa vegetal, foram incluídos mais quatro blocos para a extração de óleo, com fertilidade significativamente inferior, fato constatado em

análises de solo por bloco após cada colheita. Na implantação do experimento a amostra coletada para análise de solo foi composta, representativa da área toda.

Outros 4 fatores podem ter contribuído para estas diferenças: propriedades físico-químicas e termodinâmicas específicas dos dois processos; material vegetal diferenciado (folhas na hidrodestilação e planta inteira na destilação por arraste), eficiência do projeto da planta usada e o último diz respeito à metodologia de operação.

A metodologia de operação de destilação comercial por arraste de vapor apresenta grandes variações. Neste trabalho o material vegetal foi colocado na dorna de destilação por 2 horas, inteiro, fresco e com teor de umidade de 80,7 % na 1ª colheita e de 80,16% na segunda enquanto que Watanabe *et al.* (2006) trituraram a massa vegetal em moinho, separando sua granulometria por peneiras sendo que o maior tamanho era de 0,175 mm com teor de umidade de 79%, destilando por uma hora cada lote granulométrico em separado. Na Índia e na China o material é deixado no campo, ao sol por algumas horas em camadas finas e depois seco ao ar, perto da caldeira dos destiladores, com revolvimento e por tempo variável, sendo usado inteiro. Nos EUA a menta é colocada fresca e inteira nas dornas (DENNY & LAURENCE, 2007). No entanto, Watanabe *et al.* (2006) comprovaram que o rendimento de óleo essencial é proporcionalmente menor quanto maior for a perda de água sofrida pelo material vegetal.

Os resultados de rendimento estão de acordo com os obtidos por Watanabe *et al.* (2006) destilando por arraste de vapor *M. arvensis* [L.] var. *piperaszens* em Cascavel - PR que registraram valores entre 0,34 e 0,78% inferiores aos citados por Srivastava *et al.* (2002) na Índia (0,7 a 0,9%). Os autores justificam o baixo rendimento em função de limitações edáficas de fertilidade e da temperatura de destilação de 102 °C. Aqui a fertilidade do solo propiciou os rendimentos maiores obtidos na hidrodestilação, porém na destilação por arraste foram incluídos 4 blocos com fertilidade limitada. A temperatura de destilação usada foi de 100 °C. Outro fator de influência importante diz respeito à razão entre a altura do extrator e a altura da carga ( $H_{ext} / H_{carga}$ ) sendo que os autores observaram aumento do rendimento de 8% com razão 2:1 em relação à razão 1:1 também usada neste experimento, no entanto, sugerem que a razão 1:1 poderá propiciar maior rendimento se for aumentada a vazão do condensado criada pelo aumento da pressão, podendo-se

dobrar a área de troca térmica e o volume da massa. Watanabe et al. (2006) relatam ainda o extração de óleo essencial com etanol obtendo rendimentos entre 0,95 e 3,87%. Milic *et al.* (2006) trabalhando com *M. x piperita* L. relatam os rendimentos comparados de destilação por arraste de vapor (3,2%), uso de solvente clorito de metileno (8,2%) e a extração em fluido supercrítico por CO<sub>2</sub> (3,6%) comentando a transformação que alguns compostos voláteis sofrem sob elevada temperatura na destilação, o caráter não seletivo e a contaminação com solventes orgânicos indesejáveis organolepticamente e por razões de saúde da extração química e a eficiência aliada ao caráter de “tecnologia limpa” da extração supercrítica.

A destilação por arraste de vapor de 20 kg de massa fresca de folhas e caules, resultou em 22 L de hidrolato, 2,40 L de água residual e 2,32 kg de massa seca de torta residual de destilação.

#### 6.3.4 Composição do OE Hidrodestilação x Destilação por arraste de vapor

A tabela 10 apresenta a caracterização qualitativa e quantitativa dos óleos essenciais extraídos por hidrodestilação e por destilação por arraste.

TABELA 10. Constituintes (%) no óleo essencial de *Mentha canadensis* L. em hidrodestilação e destilação de arraste por vapor na segunda colheita no tratamento CA na colheita de abril (com adubação NPK). Pinhais, 2010.

Constituinte	Hidrodestilação	Arraste de vapor
$\alpha$ pineno	0,04	0,20
$\beta$ pineno	0,16	0,31
mirceno	0,09	0,13
3-octanol	0,17	0,00
limoneno	0,83	1,87
linalol	0,33	0,06
mentona	5,91	6,04
iso-mentona+neomentol	4,17	3,34
mentol	88,57	86,85
iso-mentol	0,07	0,00
piperitona	0,26	0,00
(E)-cariofileno	0,44	0,84
gama-muroleno	0,14	0,35

Pode-se observar que o método de extração não alterou drasticamente a composição química e o teor dos constituintes nos OE hidrodestilado e destilado por arraste. Na destilação por hidrodestilação o teor de mentol foi quase 2% maior, a iso-mentona + neomentol 1% maior, e o limoneno 1% menor. As outras variações não ultrapassaram o 1%.

A presença dos componentes 3-octanol, iso-mentol e piperitona no OE hidrodestilado apesar dos baixos teores, não foi constatada no OE destilado por arraste.

Watanabe *et al.* (2006) compararam o óleo essencial extraído pela destilação por arraste de vapor com a extração por etanol a 60 e 30 °C constatando menores teores de mentol e maiores de metil acetato na extração por destilação.

### 6.3.5. Extração de nutrientes

#### 6.3.5.1 Análise foliar de nutrientes

Os teores de nitrogênio, carbono, fósforo e a relação carbono nitrogênio nas folhas não diferiram significativamente entre os fatores de manejo (Tabela 10) e época (Tabela 11), assim como não houve interação entre eles. Atiyeh *et al.* (2002) observaram aumento de 4,1% no teor de N em plântulas de tomate tratadas com 250 mg kg<sup>-1</sup> ácidos húmicos, porém o tratamento de 50 mg kg<sup>-1</sup> igual ao deste experimento não apresentou diferença em relação à testemunha. Da mesma forma, Arangon *et al.* (2006) não assinalaram diferenças significativas nos teores de carbono e nitrogênio nas 4 espécies tratadas com ácidos húmicos, reforçando a teoria da sua ação de natureza hormonal como causa do aumento na produtividade de massa seca.

TABELA 11- Teores foliares de nitrogênio (N), carbono (C), relação C/N e fósforo (P) em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA +AF – com adubação e AF; CA + EA – com adubação e EA; CA + EF + EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.

Tratamentos	N	C	C/N	P
		%		g Kg <sup>-1</sup>
SA	1,84 ns	42,15 ns	22,77 ns	5,05 ns
CA	1,78	43,01	24,33	5,27
CA + AF	1,85	42,72	23,72	5,06
CA + EA	1,86	43,19	23,42	4,83
CA+ AF + EA	1,87	43,46	23,29	5,13
CV %	12,01	27,94	26,5	14,99

ns - diferença não significativa

Os resultados da concentração de potássio nas folhas diferiram significativamente entre os períodos e os tratamentos, apresentando interação entre tratamento e períodos (Tabela 13). Pode-se observar que a extração de K foi significativamente maior com a aplicação de bioestimulantes em relação ao tratamento com adubação - CA. Este acúmulo foi mais significativo no tratamento com extrato de alga e ácido fúlvico (CA +EA+AF). A correlação da maior MST observada nos tratamentos com ácido fúlvico com maiores teores de K foliar pode estar relacionados com a ação do íon  $K^+$  na participação na síntese da ribulose-bifosfato-carboxilase que afeta a taxa de assimilação do  $CO_2$  como também pela ativação da enzima ATPase responsável pela troca de nutrientes entre apoplasto e simplasto, (VALMORBIDA *et al.*, 2006). Façanha *et al.*, 2002 comprovaram a influência dos ácidos húmicos, principalmente o fúlvico no aumento do gradiente eletroquímico gerado pela  $H^+$ -ATPase da membrana plasmática. Este aumento está diretamente envolvido com dois mecanismos fundamentais do desenvolvimento vegetal. A energização de sistemas secundários de translocação de íons fundamentais para a absorção de macro e micronutrientes e o aumento da plasticidade da parede celular para possibilitar o processo de crescimento e divisão da célula vegetal, relacionado com a teoria do crescimento ácido, que postula que um aumento da extrusão de prótons mediado pela  $H^+$ -ATPase promove a acidificação do apoplasto, que por sua vez ativa enzimas específicas que atuam sobre a parede celular aumentando sua plasticidade e, conseqüentemente, permitindo o alongamento da célula. Nos tratamentos sem bioestimulantes, SA e CA, a adubação com NPK (CA) não propiciou diferença significativa na extração de nutrientes em relação ao tratamento sem adubação (SA).

TABELA 12 – Teores de nitrogênio (N), carbono (C), relação C/N e fósforo (P) das colheitas de janeiro e abril, em Pinhais – PR, 2010.

	N	C	C/N	P
Época	%			g Kg <sup>-1</sup>
1ª colheita	1,86 ns	42,25 ns	22,92 ns	5,06 ns
2ª colheita	1,83	43,56	24,09	5,08

ns - diferença não significativa

Na segunda colheita o nível de extração de potássio foi significativamente superior apesar da cultura ter disposto de 15 dias a menos em relação à primeira colheita (Tabela 13). A mesma tendência de extração foi mantida em todos os tratamentos exceto EA. Na primeira colheita o tratamento SA – sem adubação

extraiu um baixo teor de K enquanto apresentou o maior rendimento de OE. Sinha & Singh (1984) estudando a nutrição mineral em *M. arvensis*, concluíram que a deficiência de potássio além de aumentar os teores de N solúvel diminuindo o N protéico nos tecidos vegetais também aumentou o rendimento de óleo essencial como foi observado no tratamento sem adubação – SA, na primeira colheita. Valmorbidia *et al.* (2006) não constataram diferença no rendimento de óleo essencial de *M. arvensis* em plantas deficientes de potássio em relação a plantas com suplemento adequado. Apesar da baixa extração de K do tratamento com extrato de alga na segunda colheita pode-se observar elevado rendimento de OE

TABELA 13 – Teores de Potássio foliar ( $\text{g Kg}^{-1}$ ) em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA + AF – com adubação e AF; CA + EA – com adubação e EA; CA + EF + EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.

Tratamentos	1ª colheita	2ª colheita
SA	28,71 Bb	42,44 Aab
CA	31,80 Bab	45,41 Aab
CA + AF	35,18 Bab	48,11 Aab
CA + EA	43,91 Aa	37,88 Bb
CA+ AF + EA	43,60 Ba	52,14 Aa
CV% = 13,42		

As letras minúsculas comparam as médias nas colunas e as maiúsculas nas linhas. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

### 6.3.5.2 Análise de nutrientes na torta residual

Sabendo-se que a extração do óleo essencial representa somente a retirada de C, H, e O, o manejo da reciclagem da torta residual da destilação com o demais nutrientes exportados do solo pela cultura, pela prática da cobertura morta assume um caráter importante na sustentabilidade da atividade.

TABELA 14 - Teores de macronutrientes na torta residual da 1ª colheita (janeiro) em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA + AF – com adubação e AF; CA + EA – com adubação e EA; CA + EA+AF – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.

Tratamentos	N %	C%	C/N	K ( $\text{g Kg}^{-1}$ )	P( $\text{g Kg}^{-1}$ )
SA	1,89	39,48	20,97	39,61	4,59
CA	1,99	41,22	20,87	41,03	4,65
CA + AF	2,02	41,27	20,61	49,99	4,96
CA + EA	2,09	41,02	19,69	44,08	4,67
CA+ AF + EA	1,99	40,99	20,56	44,77	4,74

Nas tabelas 14 e 15 observa-se que os teores de nutrientes na torta residual do tratamento sem adubação (SA) foram mais baixos do que todos os demais

tratamentos. A concentração máxima de K e P na torta residual ocorreu nos tratamento com ácido fúlvico. Este fato pode estar relacionado com a ação quelante do ácido fúlvico que ao ser absorvido pelas plantas aumentam a condução e translocação de íons devido ao seu baixo peso molecular que lhes permite atravessar as membranas celulares (SCHMIDT *et al.*, 2003).

TABELA 15 - Teores de macronutrientes na torta residual da 2ª colheita (maio) em função dos tratamentos: SA – sem adubação; CA – com adubação NPK; CA + AF – com adubação e AF; CA + EA – com adubação e EA; CA + EF + EA – com adubação + ácido fúlvico e extrato de alga, em Pinhais – PR, 2010.

Tratamentos	N %	C%	C/N	K (g Kg <sup>-1</sup> )	P(g Kg <sup>-1</sup> )
SA	2,34	41,75	17,96	55,42	5,68
CA	2,82	42,79	15,24	70,16	6,37
CA + AF	2,66	43,55	16,46	83,05	7,39
CA + EA	2,70	42,88	15,89	65,62	6,19
CA+ AF + EA	2,73	42,69	15,68	66,74	6,61

A extração de nutrientes NPK foi maior na colheita de maio e a assimilação de carbono maior na colheita de janeiro. Patra *et al.* (2000) relataram teores de 1,55% de N, 43,6% de C, 22,2 g Kg<sup>-1</sup> de K e 4,6 g Kg<sup>-1</sup> de P na torta residual de destilação de *M. arvensis*. A concentração de nutrientes na torta residual observada na primeira colheita não diferiu consideravelmente dos valores apresentados pelos autores, no entanto, na segunda colheita todos os nutrientes foram extraídos em quantidades maiores, apesar do ciclo da brotação de poda ter sido 15 dias menor e a MST inferior à primeira colheita (Tabela 16).

TABELA 16- Média dos teores de macronutrientes na torta residual na 1ª colheita e na 2ª colheita, em Pinhais – PR, 2010.

Período	N%	C/N	K (g Kg <sup>-1</sup> )	P (g Kg <sup>-1</sup> )
1ª colheita	1,99	20,54	43,89	4,72
2ª colheita	2,65	16,24	68,20	6,45

Considerando-se o produto da MST (Tabela 5) das colheitas de janeiro e maio com as quantidades de nutrientes extraídos (Tabela 16), obtem-se uma extração de nutrientes N, P e K de 62,6 e 58,7 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, 138 e 151 kg ha<sup>-1</sup> de potássio e 14,8 e 14,3 kg ha<sup>-1</sup> de fósforo, respectivamente. Estes valores das duas colheitas somados perfazem um total de 121,3 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, 289 kg ha<sup>-1</sup> de potássio e 29,1 kg ha<sup>-1</sup> de fósforo extraídos pela cultura em dois ciclos produtivos. Estes resultados não são muito diferentes dos descritos por Corrêa Júnior *et al.* (1994), para uma produção de 4 t ha<sup>-1</sup> seriam retirados 170 kg de nitrogênio, 25 kg



de fósforo e 290 kg de potássio. Considerando a recomendação de adubação da cultura de 20 de kg ha<sup>-1</sup> de N, 40 kg ha<sup>-1</sup> de P e 30 kg ha<sup>-1</sup> de K, os dados acima demonstraram claramente a necessidade de retornar a torta residual de destilação de menta ao solo na forma de cobertura morta como estratégia de devolução dos nutrientes exportados do solo. As vantagens desta prática para o solo foram constatadas por Patra *et al.* (2000) como sendo maior teor de carbono orgânico e de N, P e K, maior biomassa microbiana, maior retenção de água e redução da densidade. Em termos econômicos e ambientais foram citados o menor custo de produção, a manutenção da capacidade produtiva do solo, a redução de deficiências induzidas e a menor necessidade de adubos fósseis.

As amostras de hidrolato da primeira e segunda colheita não apresentaram teores de K, deduzindo-se que o mesmo não está sujeito a arraste por vapor.

## 6.4 CONCLUSÕES

Em *Mentha canadensis* L. o uso da adubação NPK, com pulverizações foliares conjuntas de extrato de alga e ácido fúlvico (CA + EA + AF) aumenta a massa seca total, porém não aumenta a produtividade de óleo essencial.

Aplicações isoladas de ácido fúlvico e extrato de alga não alteram significativamente a massa seca de folhas e total, o rendimento e a produtividade de óleo essencial quando comparadas com a aplicação isolada de NPK.

A colheita de janeiro propicia maior massa seca de folhas e total, enquanto que na colheita de abril o rendimento de óleo essencial é maior.

A produtividade de óleo essencial não difere entre as colheitas de janeiro e abril.

### **Extração de OE por hidrodestilação x Extração por arraste de vapor**

As avaliações de rendimento de óleo essencial por hidrodestilação em Clevenger não refletem a realidade das extrações comerciais realizadas pelo processo de destilação por arraste de vapor, devido às propriedades físico-químicas e termodinâmicas específicas dos dois processos.

O rendimento obtido na hidrodestilação é superior ao obtido na destilação por arraste de vapor.

A forma de extração não altera a qualidade do óleo essencial.

### **Extração de nutrientes**

A ausência do potássio no hidrolato revela que o nutriente não foi removido na destilação por arraste de vapor.

A quantidade de NPK exportadas pela cultura de *M. canadensis* L. em dois ciclos de produção são de 121,3 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, 289 kg ha<sup>-1</sup> de potássio e 29,1 kg ha<sup>-1</sup> de fósforo.

## REFERÊNCIAS

ANWAR, M.; CHAND, S.; PATRA, D. D.; Effects of graded levels of NPK on fresh herb yield, oil yield and oil composition of six cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis* Linn.) **Indian Journal of Natural Products and Resources**. V. 1, n.1, p. 74 - 79, 2010.

ARANCON, N.Q.; EDWARDS, C.A.; LEE, S.; BYRNE, R. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth **European Journal of Soil Biology** 42 p.S65–S69, 2006.

ATIYEH, R.M.; EDWARD, C.A. ; ARANCON N.Q.; METZGER, J.D. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth; **Bioresource. Technology**, v. 84, p.7-14. 2002.

CASTRO, L. W. P., **Desenvolvimento de Mentha aquatica e Mentha x piperita, rendimento e qualidade do óleo essencial em reposta a níveis de radiação e adubação nitrogenada**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Produção Vegetal, DFF/ CCA/UFPR. 2007.

CASTRO, P. R. C. & VIEIRA, E. L. **Aplicação de reguladores vegetais na agricultura tropical**. Guaíba. Agropecuária. 132p. 2001.

CRAIGIE J. S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. **J. Applied Phycology**. DOI 10.1007/s10811-010-9560-4 published online 20 July 2010, acessado em: 28/102010.

DENNY, E.F.K.; AND LAWRENCE, B. M. The Distillation of Mint Oils: History, Current Theory, and Practice Chap. 6 p.185 – 216. In: **Mint : the genus mentha** / Brian M. Lawrence. Mints (Plants) I. Title. Taylor & Francis Group, LLC, 547p. 2007.

DONATO, M.T.S.; ANDRADE, A.G.; SOUZA, E. S.;FRANÇA, J. G. E; MACIEL, G. A. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas in vitro sob diferentes níveis de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1087-1093, 2004.

FAÇANHA, A. R.; FAÇANHA, A. L. O.; OLIVARES,F. L.; GURIDI, F.;GABRIEL DE ARAÚJO SANTOS, G. A.; VELLOSO,A. C. X.; RUMJANEK,V. M. SCHRIPSEMA, J.; BRAZ-FILHO, R.; MARCO ANTÔNIO DE OLIVEIRA, M. A.; CANELLAS, L.P Bioatividade de ácidos húmicos: efeitos sobre o desenvolvimento radicular e sobre a

bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 9, p. 1301-1310, 2002.

FAROOQI, A. H. A.; SANGWAN, N. S.; SANGWAN, R. S. Effect of different photoperiodic regimes on growth, flowering and essential oil in *Mentha* species. **Plant Growth regulation**, v. 29, p. 181-187, 1999.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**. v. 30, n. 2, p. 374 -381, 2007.

HAIDER, F.; BAGCHI, G. D.; SINGH, A. K. Effect of calliterpenone on growth herb yield and oil quality of *M. arvensis* L. **International Journal of Integrative Biology**, v. 7. n.1 p. 53 – 57, 2009.

KHAN, W., RAYIRATH, U., SUBRAMANIAN, S., JITHESH, M. N., RAYORATH, P., D. HODGES, M., CRITCHLEY, A., CRAIGIE, J. F., NORRIE, J., PRITHIVIRAJ, B. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. Review. **J. Plant Growth Regulation** v.8. p. 386 - 399, 2009.

KOFIDIS, G.; BOSABALIDIS, A.; KOKKINI, S. Seasonal variation of essential oils in a linalool-rich chemotype of *Mentha spicata* grown wild in Greece. **Journal Essential Oil Research**, 16, p. 469-472, 2004.

LAWRENCE, B. M. **Mint : the genus *Mentha*** / Brian M. Lawrence. Mints (Plants) I. Title. Taylor & Francis Group, LLC, 2007. 547p.

MARTINS, A.P.L.; REISSSMANN, C.B. Material vegetal e as rotinas laboratoriais nos procedimentos químico-analíticos. **Scientia Agrária**, v.8, n.1, p. 1-17, 2007

MILIC, S.; LEPOVIC, Z.; ADOMOVIC, D.; MUJIC, I.; ZEKOVIC, Z. Comparison of mentha extracts obtained by different extraction methods. **APTEFF**, v. 37, 1-192 p. 145 – 154, 2006.

MONTEIRO, R. **Desenvolvimento de Menta e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo**. 80 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2009.

NISSEN, O. **MSTAT-C a microcomputer for design, management, and analysis of agronomic research experiments**. Version 2.1 East Lansing: Michigan State University, 1993. 300p.

PATRA, D.D.; ANWAR, M.; CHAND, S. Integrated nutrient management and waste recycling for restoring soil fertility and productivity in Japanese mint and mustard sequence in Uttar Pradesh, India. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 80 p. 267 – 275, 2000.

PAVAN, M. A.; BLOCH, M. F.; ZEMPULSKI, H. C.; MIYAZAWA, M.; ZOCOLER, D.C. **Manual de análise química de solo e controle de qualidade**. IAPAR, Londrina, 1992. (IAPAR. Circular 76).

RAM, D.; RAM, M., SINGH, R. Optimization of water and nitrogen application to menthol mint (*Mentha arvensis* L.) through sugarcane trash mulch in a sandy loam soil of semi-arid subtropical climate. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 886 - 893, 2006.

RAM, D. & KUMAR, S. Yield and improvement in regenerated and transplanted mint *Mentha arvensis* by recycling the organic wastes and manures. **Bioresource Technology**. GB. v. 59, n.2, p. 141-149. 1998.

RODRIGUES, C.R.; FAQUIN, V.; TREVISAN, D. PINTO, J.E.B.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; RODRIGUES, T.M. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob diferentes concentrações de fósforo e épocas de colheita. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p.573-578, 2004.

ROHLOFF, J.; DRAGLAND, S.; MORDAL, R., IVERSEN, T. Effect of harvest time and drying method on biomass production, essential oil, and quality of peppermint (*Mentha x piperita* L.) **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4143-4148, 2005.

SANGVAN, N. S.; FAROOQI, A. H.A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R.S. Regulation of essential oil in plants. **Plant Growth Regulation**. V. 34, p. 3 -21, 2001.

SCRAVONI, J.; VASCONCELLOS, M. C.; VALMORBIDA, J.; FERRI, A. F.; MARQUES, M. O. M.; ONO, E.O.; RODRIGUES, J. D. Rendimento e composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* L. submetida a aplicações de giberilina e citocinina. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, n. 4, p. 40-43, 2006.

SCHMIDT, R.E.; ERVIN; E.H.; ZHANG, X.; Questions and answers about biostimulants. In: Research / **GCM**. p. 91-94, 2003.

SRIVASTAVA, R. K.; SINGH, A. K.; KALRA, A.; TOMAR, V. K .S.;BANSAL, R. P.; PATRA, D. D.; CHAND, S.; NAQVI, A. A.; SHARMA, S.; KUMAR, S. Characteristics of menthol mint *Mentha arvensis* cultivated on industrial scale in the Indo-Gangetic plains. *Industrial Crops and Products* v.15, p. 189-198, 2002.

STORCK, R. C. **Sombreamento, ácido giberélico e extrato de alga no desenvolvimento e produção de óleos essenciais em Patchouli.** 98p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

Sushil Kumar. Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants (CIMAP). Menthol Mint: India. Em: [http://ssc.undp.org/uploads/media/Menthol\\_Mint\\_India.pdf](http://ssc.undp.org/uploads/media/Menthol_Mint_India.pdf). acesso em: 27/10/2010.

VALMORBIDA,J.; BOARO, C. S. F.; MARQUES, M. O. M.; FERRI, A. F. Rendimento e composição química de óleos essenciais de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes concentrações de potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.** V.8, n.4. p.56 – 61, 2006.

VASCONCELOS, A.C.F.; ZHANG, X.; ERVIN; E.H.; KIEHL, J.C. Enzymatic antioxidant responses to biostimulants in maize and soybean subjected to drought. **Sci. Agric. Piracicaba, (Braz.),** v.66, n.3, p. 395 - 402, 2009.

WATANABE, C. H.; NOSSE, T. M.; GARCIA, C. A.; PINHEIRO POVL, N. Extração de óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) por destilação por arraste a vapor e extração com etanol. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** v. 8, n.4, p. 76- 86, 2006.

ZHELJAZKOV, V.D.; CANTRELL, C.L.; ASTATKIE, T.; EBELHAR, M.W. Peppermint productivity and oil composition as a function of nitrogen, growth stage and harvest time. **Agronomy Journal**, v. 102, p. 124 -128, 2010 a.

ZHELJAZKOV, V.D.; CANTRELL, C.L.; ASTATKIE, T.; EBELHAR, M.W. Productivity, Oil content, and Composition of two Spearmint Species in Mississippi. **Agronomy Journal**, v. 102, p. 129 -133, 2010 b.

## 7 CONCLUSÕES GERAIS

**Nas condições experimentais do Litoral Norte Catarinense, Araquari - Santa Catarina com os resultados obtidos conclui-se que:**

A espécie *Mentha canadensis* L. (CM 37) apresenta adaptação local e potencial de produção, expressos pela produção de 186,9 litros por hectare de óleo essencial com 166 litros por hectare de mentol.

Tendo em vista a elevada produção de biomassa que compensa o menor teor de mentol no óleo essencial, os 3 genótipos de *Mentha arvensis* L. (CM 75, 76 e 78) também podem ser considerados viáveis para a produção de mentol.

A colheita em fevereiro proporciona maior biomassa e teor de óleo essencial, favorecendo a produtividade de óleo essencial.

A colheita em maio proporciona aumento na concentração de mentol e redução nos teores de mentona, neomentol e acetato de metila.

Nas condições do experimento a propagação por estolões de 20 cm é viável a partir da segunda colheita.

**Nas condições experimentais de Pinhais, Curitiba - Paraná, os resultados obtidos com *Mentha canadensis* L. conduzem às seguintes conclusões gerais:**

Em casa de vegetação os bioestimulantes, extrato de alga e ácido fúlvico aumentam a produtividade de óleo essencial.

A forma de aplicação e as concentrações de extrato de alga e ácido fúlvico usadas não interferem na produção de biomassa e de óleo essencial.

A campo, a aplicação foliar conjunta de extrato de alga e de ácido fúlvico promove aumento na produção de massa seca total, porém os bioestimulantes em pulverização isolada não alteram nem a massa seca nem o rendimento de OE.

A colheita de janeiro favorece a produção de massa seca quando comparada com a de abril.

O rendimento de óleo essencial obtido na hidrodestilação é superior ao obtido na destilação por arraste de vapor.

O potássio não é removido das folhas durante a destilação por arraste de vapor não sendo encontrado no hidrolato nem na água residual de destilação.

A quantidade de NPK exportadas em dois ciclos de produção de *M. canadensis* L. são de 121,3 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, 289 kg ha<sup>-1</sup> de potássio e 29,1 kg ha<sup>-1</sup> de fósforo.



## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção de óleo essencial de menta e de mentol pode tornar a ser um componente expressivo da cadeia produtiva de plantas medicinais, aromáticas e condimentares atendendo à demanda das indústrias nacionais e contribuindo para a sustentabilidade financeira do produtor rural.

Para que essa atividade no Litoral Norte Catarinense assim como em Pinhais, Paraná, possa ser uma alternativa economicamente viável e segura, pesquisas futuras deverão ser direcionadas para:

- Avaliações complementares das interações entre genótipos, variações sazonais e da composição do óleo essencial serão necessárias para permitir uma redução de riscos, manutenção da produtividade e qualidade do OE;
- Estudos do custo de produção em sistemas de cultivo racional e análise de viabilidade financeira;
- Investigação da correlação entre as condições do clima, nutrição vegetal e sistemas de cultivo com a incidência de doenças e seu controle.
- Estudos mais aprofundados com relação às alterações no metabolismo vegetal pela ação dos bioestimulantes e a sua interação com as condições ambientais.
- Avaliações das propriedades físico-químicas e termodinâmicas específicas do processo de destilação por arraste de vapor, tomando a necessária cautela quando se transpõem dados de hidrodestilação para a produção comercial em análises financeiras.
- A devolução da torta residual de destilação na forma de cobertura morta de solo deve representar uma prática obrigatória de forma a viabilizar a manutenção da capacidade produtiva do solo e a produtividade da cultura.

## ANEXOS

### ANEXO 1 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE MASSA SECA DE FOLHAS (MSF) EXPERIMENTO “GENÓTIPOS DE *Mentha* EM DUAS ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO, ARAQUARI, SC, 2009”.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	
Repetição	3	856954.877	285651.626	2.1609	0.1014ns
Época	1	19501873.050	19501873.050	147.5278	0.0000**
Genótipos	10	6780686.242	678068.624	5.1295	0.0000**
Interação ExG	10	2973331.732	297333.173	2.2493	0.0256*
Resíduo	63	8328042.026	132191.143		
Total	87	38440887.927			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 29.82

### ANEXO 2 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE MASSA SECA TOTAL (MST) EXPERIMENTO “GENÓTIPOS DE *Mentha* EM DUAS ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO, ARAQUARI, SC, 2009”.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	
Repetição	3	1917076.181	639025.394	2.3805	
Época	1	26847892.439	26847892.439	100.0147	0.0000**
Genótipos	10	20917299.773	2091729.977	7.7922	0.0000**
Interação ExG	10	5913481.892	591348.189	2.2029	0.0289*
Resíduo	63	16911686.340	268439.466		
Total	87	72507436.625			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 27.29

### ANEXO 3 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE MASSA SECA DE FOLHAS / MASSA SECA DE TOTAL (MSF/MST) EXPERIMENTO “GENÓTIPOS DE *Mentha* EM DUAS ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO, ARAQUARI, SC, 2009”.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	
Repetição	3	0.019	0.006	0.7194	
Época	1	0.443	0.443	49.6833	0.0000**
Genótipos	10	0.130	0.130	1.4585	0.1765ns
Interação ExG	10	0.213	0.021	2.3878	0.0180*
Resíduo	63	0.561	0.009		
Total	87	1.365			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 15.09

ANEXO 4 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DO EXPERIMENTO “**GENÓTIPOS DE *Mentha* EM DUAS ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO, ARAQUARI, SC, 2009**”.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	7.820	2.607	3.5093	
Época	1	400.204	40.020	53.8793	0.0000**
Genótipos	10	89.294	89.294	120.2163	0.0000**
Interação ExG	10	23.364	2.336	3.1455	0.0026**
Resíduo	63	46.795	0.743		
Total	87	567.477			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 20.53

ANEXO 5 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL (L HA<sup>-1</sup>) EXPERIMENTO “**GENÓTIPOS DE *Mentha* EM DUAS ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO, ARAQUARI, SC, 2009**”.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	164.321	54.774	0.7883	
Época	1	39661.052	3966.105	57.0832	0.000**
Genótipos	10	36019.372	36019.372	518.4181	0.000**
Interação ExG	10	8524.681	852.468	12.2694	0.000**
Resíduo	63	4377.201	69.479		
Total	87	88746.626			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 20.68

ANEXO 6 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE PRODUTIVIDADE DE MENTOL (L ha<sup>-1</sup>) EXPERIMENTO “**GENÓTIPOS DE *Mentha* EM DUAS ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO, ARAQUARI, SC, 2009**”.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	164.101	54.700	1.5720	
Época	1	43653.410	4365.341	125.4563	0,000**
Genótipos	10	8410.408	8410.408	241.7083	0,000**
Interação ExG	10	5122.333	5122.333	14.7212	0.000**
Resíduo	63	2192.129	34.796		
Total	87	59542.381			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 26.61

ANEXO 7 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO TEOR DE MENTOL NO EXPERIMENTO “**GENÓTIPOS DE *Mentha* EM DUAS ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO, ARAQUARI, SC, 2009**”.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3				
Época	1	349.029	116.343	2.1101	
Genótipos	10	1200.320	1200.320	21.7697	0.0000**
Interação ExG	10	45235.247	4523.525	82.0413	0.0000**
Resíduo	63	2388.386	238.839	4.3317	0.0001**
Total	87	3473.643	55.137		
Repetição	3	52646.624			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo CV%: 13,88

**ANEXO 8 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO TEOR DE LIMONENO NO EXPERIMENTO “GENÓTIPOS DE *Mentha* EM DUAS ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO, ARAQUARI, SC, 2009”.**

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	0.180	0.060	1.6791	
Genótipo	8	3.709	0.464	12.9639	0.0000**
Época	1	0.054	0.054	1.5071	0.2252ns
Interação G x E	8	0.759	0.095	2.6515	0.0163**
Resíduo	51	1.824	0.036		
Total	71	6.525			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo CV%: 24.75

**ANEXO 9 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO TEOR DE MENTONA NO EXPERIMENTO “GENÓTIPOS DE *Mentha* EM DUAS ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO, ARAQUARI, SC, 2009”.**

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	49.216	16.405	1.2620	
Época	1	3902.605	3902.605	300.2000	0.0000**
Genótipos	9	9329.299	1036.589	79.7375	0.0000**
Interação ExG	9	1345.323	149.480	11.4985	0.0000**
Resíduo	57	741.001	13.000		
Total	79	15367.444			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo CV%: 20.95

**ANEXO 10 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO TEOR PULEGONA DE NO EXPERIMENTO “GENÓTIPOS DE *Mentha* EM DUAS ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO, ARAQUARI, SC, 2009”.**

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	0.071	0.024	0.3559	
Época	1	3.809	3.809	57.3752	0.0000**
Genótipos	4	18.794	4.698	70.7691	0.0000**
Interação ExG	4	2.769	0.692	10.4255	0.0000**
Resíduo	27	1.793	0.066		
Total	39	27.235			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo CV%: 13.60

**ANEXO 11 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE MASSA SECA DE FOLHAS (MSF) DO EXPERIMENTO “ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE” ARAQUARI, SC, 2009.**

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	193155.075	64385.025	0.5103	
Época	1	5862837.820	5862837.820	46.4680	0.0000**
Propagação	3	4041795.329	1347265.110	10.6782	0.0002**
Interação E x P	3	7419133.634	2473044.545	19.6010	0.0000**
Resíduo	21	2649556.516	126169.358		
Total	31	20166478.373			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 24.23

ANEXO 12 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE MASSA SECA DE CAULES (MSC) DO EXPERIMENTO “ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE”. ARAQUARI, SC, 2009.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	
Repetição	3	591019.977	197006.659	3.4040	
Época	1	345280.490	345280.490	5.9659	0.0366*
Propagação	3	110874.374	36958.125	0.6386	0.0235*
Interação E x P	3	1249183.481	416394.494	7.1946	0.0017**
Resíduo	21	1215392.412	57875.829		
Total	31	3511750.734			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 31.49

ANEXO 13 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE MASSA SECA TOTAL (MST) DO EXPERIMENTO “ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE” ARAQUARI, SC, 2009.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	
Repetição	3	1408585.231	469528.410	1.9931	
Época	1	9053693.415	9053693.415	38.4317	0.0000**
Propagação	3	5006412.774	1668804.258	7.0838	0.0018**
Interação E x P	3	14391099.035	4797033.012	20.3628	0.0000**
Resíduo	21	4947155.329	235578.825		
Total	31	34806945.784			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 21.77

ANEXO 14 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DO EXPERIMENTO, “ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE”, ARAQUARI, SC, 2009.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	
Repetição	3	1244.894	414.965	2.4389	0.0929ns
Época	1	561.232	561.232	3.2985	0.0836ns
Propagação	3	842.372	280.791	1.6503	0.2081ns
Interação E x P	3	399.814	133.271	0.7833	
Resíduo	21	3573.052	170.145		
Total	31	6621.365			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 12.82

ANEXO 15 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DO EXPERIMENTO “**ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE**”, ARAQUARI, SC, 2009.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	
Repetição	3	7605.533	2535.178	3.8824	0.0236*
Época	1	37818.622	37818.622	57.9160	0.0000**
Propagação	3	33896.658	11298.886	17.3033	0.0000**
Interação E x P	3	46801.771	15600.590	23.8910	0.0000**
Resíduo	21	13712.820	652.991		
Total	31	139835.404			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 27.75

ANEXO 16 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO LIMONENO DO EXPERIMENTO “**ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE**”, ARAQUARI, SC, 2009.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	2.597	0.866	5.9959	0.0041
Época	1	3.435	3.435	23.7866	0.0001**
Propagação	3	0.113	0.038	0.2614	
Interação ExP	3	0.907	0.302	2.0948	0.1315 ns
Resíduo	21	3032	0.144		
Total	31	10.085			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo CV%: 43,66

ANEXO 17 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MENTONA DO EXPERIMENTO, “**ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE**”ARAQUARI, SC, 2009.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	23.759	7.920	4.9312	0.0095
Época	1	60.966	60.966	37.9607	0.0000**
Propagação	3	4.902	1.634	1.0174	0.4048 ns
Interação ExP	3	9.634	3.211	1.9995	0.1449 ns
Resíduo	21	33.726	1.606		
Total	31	132.987			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo CV%: 19.71%

ANEXO 18 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO NEOMENTOL DO EXPERIMENTO, “**ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE**”ARAQUARI, SC, 2009.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	1.921	0.640	3.8219	0.0249
Época	1	0.073	0.073	0.4331	
Propagação	3	0.640	0.021	1.1970	0.3351 ns
Interação ExP	3	0.727	0.242	1.4466	0.2576 ns
Resíduo	21	3.519	0.168		
Total	31	6.824			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo CV%: 11,98

**ANEXO 19 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MENTOL DO EXPERIMENTO, “ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE” ARAQUARI, SC, 2009.**

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	203.095	67.698	4.4236	0.0147
Época	1	17.314	217.314	14.1998	0.0011**
Propagação	3	18.592	6.197	0.4049	
Interação ExP	3	42.835	14.278	0.9330	
Resíduo	21	321.384	15.304		
Total	31	803.220			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo CV%: 4.57%

**ANEXO 20 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO ISOMENTOL DO EXPERIMENTO, “ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE” ARAQUARI, SC, 2009.**

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	0.227	0.076	1.2911	0.3035
Época	1	0.306	0.306	5.2074	0.0330 *
Propagação	3	0.180	0.060	1.0237	0.4022 ns
Interação ExP	3	0.019	0.006	0.1083	
Resíduo	21	1.233	0.059		
Total	31	1.966			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo CV%: 93,13

**ANEXO 21 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO PULEGONA DO EXPERIMENTO “ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE”, ARAQUARI, SC, 2009.**

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	0.101	0.034	0.3141	
Época	1	6.406	6.406	59.6265	0.0000**
Propagação	3	0.412	0.137	1.2775	0.3079 *
Interação ExP	3	1.385	0.462	4.2979	0.0163 **
Resíduo	21	2.256	0.107		
Total	31	10.561			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; CV%:54.89

ANEXO 22 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE MASSA SECA DE FOLHAS (MSF) DO EXPERIMENTO “EXTRATO DE ALGA E ÁCIDO FÚLVICO NA PRODUÇÃO DE OLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L.”, PINHAIS, PR, 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Tratamentos	11	276499,527	25136,321	6,523	0.0000**
Resíduos	48	184965,958	3853,457		
Total	59	461465,485			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade;  
CV%: 17,13

ANEXO 23 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE MASSA SECA DE CAULES (MSC) DO EXPERIMENTO “EXTRATO DE ALGA E ÁCIDO FÚLVICO NA PRODUÇÃO DE OLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L.”, PINHAIS, PR, 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Tratamentos	11	78843,221	7167,566	0,958	0,0000**
Resíduos	48	359149,290	7482,277		
Total	59	437992,511			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade;  
CV%: 18,74

ANEXO 24 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DE MASSA SECA DE TOTAL (MST) DO EXPERIMENTO “EXTRATO DE ALGA E ÁCIDO FÚLVICO NA PRODUÇÃO DE OLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L.”, PINHAIS, PR, 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Tratamentos	11	473749,799	43068,164	2,606	0.0109**
Resíduos	48	793313,235	16527,359		
Total	59	1267063,034			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade;  
CV%: 15,60

ANEXO 25 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA RELAÇÃO MASSA SECA FOLHAS / MASSA SECA TOTAL (MSF/MST) DO EXPERIMENTO “EXTRATO DE ALGA E ÁCIDO FÚLVICO NA PRODUÇÃO DE OLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L.”, PINHAIS, PR, 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Tratamentos	11	0,203	0,018	6,217	0,0000**
Resíduos	48	0,142	0,003		
Total	59	0,345			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade;  
CV%: 12,47



ANEXO 26 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DO EXPERIMENTO “EXTRATO DE ALGA E ÁCIDO FÚLVICO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L.”, PINHAIS, PR, 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Tratamentos	11	6031,127	548,284	7,626	0,0000**
Resíduos	48	3450,931	71,894		
Total	59	9482,058			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; CV%: 16,91

ANEXO 27 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA PRODUTIVIDADE DE ÓLEO ESSENCIAL DO EXPERIMENTO “EXTRATO DE ALGA E ÁCIDO FÚLVICO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L.”, PINHAIS, PR, 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Tratamentos	11	1795,392	163,217	7,532	0.0000**
Resíduos	48	1040,212	21,671		
Total	59	2835,604			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; CV%: 25,20

ANEXO 28 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA MASSA SECA FOLHAS (MSF) NO EXPERIMENTO “BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.”, PINHAIS, PR 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	522682.284	174227.428	2.1011	0.1235ns
Época	1	689419.991	689419.991	8.3142	0.0076**
Manejo	4	820110.333	205027.583	2.4726	0.0683ns
Interação E x M	4	576252.258	144063.065	1.7374	0.1709ns
Resíduo	27	2238862.979	82920.851		
Total	39	4847327.845			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 21.46

ANEXO 29 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA MASSA SECA CAULES (MSC) NO EXPERIMENTO “BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.”, PINHAIS, PR 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	804212.288	268070.763	5.5889	0.0041
Época	1	0.000	0.000	0.0000	
Manejo	4	67788.309	16947.077	0.3533	
Interação E x M	4	0.000	0.000	0.0000	
Resíduo	27	1295052.399	47964.904		
Total	39	2167052.996			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 21.79

ANEXO 30 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA MASSA SECA TOTAL (MST) NO EXPERIMENTO “**BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.**” PINHAIS, PR 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	1527895.477	509298.492	2.1528	0.1169ns
Época	1	8650579.891	8650579.891	36.5653	0.0000**
Manejo	4	2870491.034	717622.758	3.0333	0.0346*
Interação E x M	4	2248673.819	562168.455	2.3762	0.0770ns
Resíduo	27	6387632.073	236578.966		
Total	39	21685272.295			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 18.14

ANEXO 31 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA RELAÇÃO MASSA SECA FOLHAS / MASSA SECA TOTAL (MSF/MST) NO EXPERIMENTO “**BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.**” PINHAIS, PR 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	0.021	0.007	1.5788	0.2175ns
Época	1	0.078	0.078	17.5219	0.0003*
Manejo	4	0.025	0.006	1.3889	0.2642ns
Interação E x M	4	0.012	0.003	0.6473	
Resíduo	27	0.121	0.121		
Total	39	0.257			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 13.20

ANEXO 32 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL EM HIDRODESTILAÇÃO NO EXPERIMENTO “**BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.**” PINHAIS, PR 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	1605.105	535.035	1.5002	0.2369ns
Época	1	66.716	66.716	0.1871	
Manejo	4	4989.219	1247.305	3.4973	0.0200*
Interação E x M	4	5863.026	1465.756	4.1098	0.0100**
Resíduo	27	9629.537	356.650		
Total	39	22153.602			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 30.94

ANEXO 33 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL EM HIDRODESTILAÇÃO NO EXPERIMENTO “**BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO**”

**ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.” PINHAIS, PR 2010.**

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	3557.203	1185.734	4.5920	0.0101*
Época	1	309.455	309.455	1.1984	0.2833ns
Manejo	4	1045.824	261.456	1.0125	0.4184ns
Interação E x M	4	2266.725	66.681	2.1946	0.0964ns
Resíduo	27	6971.911	258.219		
Total	39	14151.118			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 20.63

**ANEXO 34 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL EM DESTILAÇÃO POR ARRASTE NO EXPERIMENTO “BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.” PINHAIS, PR 2010.**

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	29.263	9.754	0.4420	
Época	1	746.880	186.720	8.4616	0.0001**
Manejo	4	121.313	121.313	5.4975	0.0266*
Interação E x M	4	875.879	218.970	9.9230	0.0000**
Resíduo	27	595.805	22.067		
Total	39	2369.139			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; CV%: 21.81

**ANEXO 35 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL EM DESTILAÇÃO POR ARRASTE NO EXPERIMENTO “BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.” PINHAIS, PR. 2010.**

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	338.758	112.919	2.8950	0.0535ns
Época	1	938.697	234.674	6.0166	0.0014*
Manejo	4	0.668	0.668	0.0171	
Interação E x M	4	1465.364	366.341	9.3923	0.0001**
Resíduo	27	1053.123	39.005		
Total	39	3796.610			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 22.33

ANEXO 36 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO TEOR DE NITROGÊNIO FOLIAR NO EXPERIMENTO “BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.” PINHAIS, PR 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	0.767	0.256	5.2201	0.0057*
Época	1	0.013	0.013	0.2631	
Manejo	4	0.042	0.011	0.2152	
Interação E x M	4	0.215	0.054	1.0979	0.3777ns
Resíduo	27	1.323	0.049		
Total	39	2.360			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 12.01

ANEXO 37 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA RELAÇÃO CARBONO/NITROGÊNIO FOLIAR NO EXPERIMENTO “BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.” PINHAIS, PR 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	170.778	56.926	1.4589	0.2478ns
Época	1	13.692	13.692	0.3509	
Manejo	4	10.559	2.640	0.0677	
Interação E x M	4	31.039	7.760	0.1989	
Resíduo	27	1053.538	39.020		
Total	39	1279.607			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; ns: não significativo. CV%: 26.58

ANEXO 38 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO TEOR DE POTÁSSIO FOLIAR NO EXPERIMENTO “BIOESTIMULANTES NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL POR HIDRODESTILAÇÃO E DESTILAÇÃO POR ARRASTE E EXTRAÇÃO DE NUTRIENTES EM *Mentha canadensis* L.” PINHAIS, PR 2010.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F observado	Prob
Repetição	3	375.657	125.219	3.7349	0.0229*
Época	1	731.497	731.497	21.8181	0.0001**
Manejo	4	661.919	661.919	4.9357	0.0041*
Interação E x M	4	568.342	568.342	4.2379	0.0086*
Resíduo	27	905.231	33.527		
Total	39	3242.647			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade; \* significativo ao nível de 5% de probabilidade; CV%: 14.15

## ANEXO 39

### Tradução do Capítulo 3. VARIAÇÃO SAZONAL DO CRESCIMENTO VEGETATIVO, PRODUTIVIDADE E COMPOSIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL EM GENÓTIPOS DE MENTA NO LITORAL NORTE CATARINENSE

**SANTOS, V.M.C.S.<sup>1\*</sup>; DESCHAMPS, C.<sup>2</sup>; BIZZO, H.R.<sup>3</sup>; PINTO, A. M. S.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari, BR-280, Km 26, 89.450-000, Araquari, SC. \*[veramcss@gmail.com](mailto:veramcss@gmail.com)

<sup>2</sup> Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua dos Funcionários, 1540, 80035-050, Curitiba, PR. [cicero@ufpr.br](mailto:cicero@ufpr.br)

<sup>3</sup> Embrapa Agroindústria de Alimentos, Avenida das Américas, 29501, 23020-470, Rio de Janeiro, RJ. [bizzo@ctaa.embrapa.br](mailto:bizzo@ctaa.embrapa.br) e [marcoasp@ctaa.embrapa.br](mailto:marcoasp@ctaa.embrapa.br)

**RESUMO:** O mentol, constituinte majoritário do óleo essencial de menta é usado nas indústrias farmacêutica, alimentícia e de aromas. Dez genótipos de *Mentha* sp. foram estudados em relação ao desenvolvimento vegetativo, rendimento, produtividade e composição de óleo essencial nas condições edafoclimáticas do litoral Norte Catarinense e em duas épocas (fevereiro e maio). O trabalho foi conduzido em delineamento experimental de blocos ao acaso, em esquema fatorial 10 x 2 para genótipos e épocas de colheita. A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação em aparelho graduado Clevenger. O teor de óleo essencial variou entre 0,8 e 5,3%, sendo maior em fevereiro para todos os genótipos. Os constituintes majoritários identificados foram mentol (12 – 92,7%), mentona (2,2 – 56,9%), e neomentol (2,9 – 12,1). Os maiores teores de mentol foram observados em maio, apresentando correlação negativa com mentona e neomentol, os quais foram superiores em fevereiro. Os teores de acetato de metila apresentaram correlação positiva com os de mentol. Pulegona, 1,8 cineol, e limoneno foram identificados em menores concentrações e outros treze constituintes foram detectados como elementos traço em alguns genótipos. *Mentha canadensis* L. apresentou os maiores teores de óleo essencial, (5,3 % - Fevereiro e 3,5% - Maio) e mentol (89,6% - Fevereiro, 92,7% - Maio) em ambas as colheitas. Os resultados obtidos permitem concluir que este genótipo demonstrou maior capacidade de adaptação no litoral Norte Catarinense, podendo ser recomendado para a produção de mentol.

**PALAVRAS CHAVE:** Lamiaceae. Hortelã. Recursos genéticos. Biomassa. Mentol.

**ABSTRACT:** Menthol has economic importance to the flavor, food and pharmaceutical industries. Ten menthol mint genotypes were assessed for essential oil content and composition at Southern Brazil environmental conditions at two harvest times (February and May). The experimental design was in completely randomized blocks with a 10 x 2 factorial for genotypes and harvest time. The essential oil was obtained by hydrodistillation in a Clevenger apparatus. The essential oil content varied from 0.8 to 5.3% and was greater in February for all the investigated genotypes. The main constituents identified in the essential oil samples were menthol (12 - 92.7%), mentone (2.2 - 56.9%), and neomenthol (2.9 - 12.1%). Menthol levels were superior in May and showed a negative correlation with mentone and neomenthol, which in turn were higher in February. Menthol levels were positively correlated with menthyl acetate. Pulegone, 1.8 cineol, and limonene were also detected in lower concentrations in some genotypes. Thirteen other essential oil constituents were identified as trace elements in essential oil. *Mentha canadensis* L. showed the highest essential oil content (5.3 % - February and 3.5% - May) as well as the highest menthol content (89.6% - February, 92.7% - May) in both harvests. From the results it can be stated that the environmental conditions in Southern Brazil are viable for menthol production, with two harvests. The summer harvest (February) favored oil yield, although with a slight decrease in menthol content. *M. canadensis* L. (MC 37) can be recommended as a promising genetic source for menthol production in Southern Brazil.

**KEYWORD:** Lamiaceae. Mint. Genetic resources. Biomass. Menthol.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A família Lamiaceae é composta por inúmeras espécies cultivadas em todo o mundo para a obtenção de folhas frescas, secas ou do óleo essencial usados como aromatizante ou condimento culinário (MORRIS, 2007). Os maiores produtores mundiais são a Índia, China e Estados Unidos. Apesar do Brasil já ter sido o maior produtor mundial até à década de 70, atualmente são importados US\$ 10 milhões em óleo essencial por ano (BIZZO *et al.*, 2009). O constituinte majoritário é o mentol, utilizado pelas indústrias farmacêuticas, alimentícias e de higiene pessoal.

A produção e armazenamento de óleo essencial ocorrem principalmente em tricomas glandulares peltatos (DESCHAMPS *et al.*, 2006; CROTEAU *et al.*, 2005). As oito etapas da rota metabólica de biossíntese de mentol e as respectivas enzimas envolvidas foram elucidadas (CHANG *et al.*, 2010; GERSHERZON *et al.*, 2000). A complexa regulação da expressão gênica distribuída em quatro compartimentos subcelulares, assim como a influência da ontogenia na produção de óleo essencial foi descrita em diversos estudos (CHANG *et al.*, 2010; RIOS – ESTEPA *et al.*, 2008; CROTEAU *et al.*, 2005; GERSHERZON *et al.*, 2000). No entanto, a correlação entre as características genéticas e as condições ecológicas exercem interações fisiológicas decisivas na produção de óleo essencial (GOBBO-NETO & LOPES, 2007; SANGWAN *et al.*, 2001). A variabilidade genotípica do gênero *Mentha* é favorecida pela poliploidia, segregação e facilidade de hibridização, fato que resulta em significativo polimorfismo químico (TUCKER & NACZI, 2007). Apesar do genótipo ser determinante na produção de óleo essencial a efetiva expressão gênica está sujeita à regulação por fatores ambientais como as condições edafoclimáticas (RIOS-ESTEPA *et al.*, 2008; SANGWAN *et al.*, 2001).

Em função da importância econômica do mentol, significativa atenção vem sendo dada à conservação de germoplasma do gênero *Mentha*, como recurso valioso para o incremento da produtividade e qualidade do óleo essencial, viabilizando sua produção econômica (KHANUJA *et al.*, 2000; FRANZ, 2010).

Este trabalho é parte integrante de um programa brasileiro de pesquisa direcionada à produção de mentol, que inclui a avaliação da coleção de *Mentha* em diferentes condições edafoclimáticas do país. O principal objetivo desta pesquisa foi

a determinação do crescimento vegetativo, produtividade e qualidade do óleo essencial de diferentes genótipos, nas condições do Litoral Norte Catarinense.

### 3.2 MATERIAL AND MÉTODO

#### Material vegetal e condições experimentais

Dez genótipos de *Mentha* foram obtidos através da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasil (Tabela 1). A propagação foi realizada por estaquia (5 a 7 cm), em substrato Plantmax HT®, em condições de casa de vegetação, com três irrigações diárias, na Universidade Federal do Paraná (UFPR). A transferência a campo foi realizada em novembro de 2009, em área experimental do Instituto Federal Catarinense – Campus Araquari, localizado no Litoral Norte do estado de Santa Catarina, 26°23'56" de latitude Sul e 48°44'30" de longitude Oeste, com altitude média de 4 metros, em solo caracterizado como Espodossolo (EMBRAPA, 1999). Foram realizadas duas avaliações, 90 dias após o transplante (fev, 2010) e 180 dias após a transplantes (mai, 2010). O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, em esquema fatorial 10 x 2 para genótipos e épocas de colheita, respectivamente, com 4 repetições e dezesseis plantas cada.

**Tabela 1.** Identificação dos genótipos da coleção de menta (CM) avaliada no experimento.

GENÓTIPO	DENOMINAÇÃO	NOME CIENTÍFICO	ORIGEM
CM* 3	Chocolate mint	<i>Mentha x piperita</i> L.	Purdue University - EUA
CM 23	Peppermint	<i>Mentha x piperita</i> L.	Purdue University - EUA
CM 34	EMATER 2	<i>Mentha sylvestris</i> L.	UnB - Brasil
CM 37	EMATER 3	<i>Mentha canadensis</i> L.	UnB - Brasil
CM 43	Hortelã 560	<i>Mentha piperita</i> L.	CPQBA - Brasil
CM 57	IAC 9	<i>Mentha</i> sp.	IAC - Brasil
CM 69	UFC 5	<i>Mentha x piperita</i> L.	UFC - Brasil
CM 75	Hortelã – PR1	<i>Mentha arvensis</i> L.	Cap. Leônidas Marques
CM 76	Hortelã – PR2	<i>Mentha arvensis</i> L.	Cap. Leônidas Marques
CM 78	Hortelã – PR3	<i>Mentha arvensis</i> L.	Cap. Leônidas Marques

CM\* = Coleção de menta da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia,

A correção do solo não foi necessária e a recomendação de adubação foi realizada de acordo com ROLAS – Manual de Adubação e Calagem para os estados de SC e RS (2004), na proporção de 40 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 30 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O e 20 kg



ha<sup>-1</sup> de N no plantio e 20 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura mais aos 30 dias após o plantio. O espaçamento usado foi de 60 x 30 cm e cada parcela experimental foi de 4,2 m<sup>2</sup> sendo a área de amostragem de 0,72 m<sup>2</sup>. Foi determinada a altura, massa fresca e massa seca das plantas. As amostras para determinação de massa seca foram desidratadas 65°C em estufa com circulação de ar, marca FANEN (São Paulo, Brasil) modelo 320SE até obtenção de peso constante. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação de 100g de folhas frescas, em aparelho Clevenger, por 2 horas.

**Reagentes:** Como solvente espectroscópico foi usado diclorometano (Tedia, Fairfield, USA). Os demais reagentes padrão foram adquiridos da Aldrich (Milwaukee, USA).

**Análise dos óleos essenciais:** Os óleos essenciais foram analisados pela Embrapa – Agroindústria de Alimentos - RJ, por meio de cromatógrafo a gás Agilent (Palo Alto, USA) 6890N equipado com coluna capilar de sílica (HP5, 25m X 0,32mm X 0,25µm) com 5% fenil e 95% metilsilicone. A temperatura do forno foi de 60°C a 240°C na razão de 3°C min<sup>-1</sup>, sendo o hidrogênio usado como gás de arraste (1,5 mL min<sup>-1</sup>). O óleo foi diluído a 1% em diclorometano e 1,0µL da solução foi injetada em modo split (1:100). O injetor foi mantido a 250°C e o detector (FID) a 280°C.

A espectrometria de massas (CG/EM) foi obtida em sistema Agilent 5973N operado no modo de ionização eletrônica (IE) a 70 eV com amplitude de 40-500 *m/z*. A taxa de amostragem foi de 3,15 scans/s. A fonte iônica foi mantida a 230°C, a analisador de massa a 150°C e a linha de transferência a 260 °C. O detector de massa foi acoplado ao cromatógrafo a gás Agilent 6890 com coluna capilar de sílica de baixa vazão (HP-5MS, 30m X 0,25mm X 0,25µm) preenchida com 5% fenil e 95% metilsilicone. Hélio foi usado como gás de arraste a 1,0 mL/min. Os índices de retenção linear (IRL) foram mensurados (DOOL & KRATZ, 1963) pela injeção de série de n-alcanos (C<sub>7</sub>-C<sub>26</sub>) na mesma coluna e nas mesmas condições da análise de CG.

A identificação dos constituintes do óleo foi baseada no banco de dados da 6 ed. da biblioteca Wiley de espectros de massa e pela comparação com os IRL de referência (ADAMS, 2007). Soluções padrão de mentol e mentona foram injetadas para confirmação.

**Análise estatística:** As medias de cada genótipo e épocas de colheita foram calculadas usando-se os quatro blocos de repetição. A análise de variância dos

resultados foi realizada com o auxílio do programa MSTAT-C (NISSEN, 1993), sendo as médias testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os genótipos de *M. arvensis* apresentaram as maiores alturas de planta (47,6 to 92,6 cm - Tabela 2) o que está em conformidade com descrito em Brasília para os mesmos genótipos (GRIZI *et al.*, 2006). No entanto, as *M. x piperita* (CM 3 and CM 23) cultivadas em Santa Catarina apresentaram altura de planta maior (28,3 and 21,9 cm) do que quando cultivadas em Brasília (18,3 and 15,6 cm respectivamente) (GRIZI *et al.*, 2006). *M. canadensis* (CM 37) neste trabalho apresentou altura de planta inferior aos relatados para as cultivares Cornmint e Sakhalin estudadas na Finlândia (AFLATUNI, 2005).

A massa seca de folhas e total variaram em função dos genótipos e das épocas de colheita (Tabela 2). A colheita de fevereiro propiciou valores significativamente mais elevados para todos os genótipos apesar do período vegetativo ter sido semelhante (90 e 95 dias). Condições ambientais como temperatura e precipitação devem ter influenciado o crescimento vegetativo, uma vez que a temperatura média de fevereiro foi 6,9°C mais alta, com um fotoperíodo de 14 horas/dia, favorecendo a assimilação de carbono e a produção de biomassa. Da mesma forma, a taxa de precipitação em abril e maio inferior a 60 mm também pode ter contribuído para limitar o crescimento vegetativo na segunda colheita. Resultados semelhantes de maior produção de biomassa no verão quando comparados com o outono foram relatados diversas mentas em Curitiba (MONTEIRO, 2009; DESCHAMPS *et al.*, 2008). A massa fresca da primeira colheita apresentou teor de umidade médio de 80% e na segunda colheita de 79%.

**Tabela 2.** Altura da planta, massa seca de folha (MSF) massa seca total (MST) (kg ha<sup>-1</sup>) e da relação massa seca de folhas /massa seca total (MSF/MST), observadas em dez genótipos de *Mentha* em duas épocas de avaliação, Araquari, SC.

Genótipos	Altura (cm)	Massa seca de folha kg/ha <sup>-1</sup>			Massa seca total kg/ha <sup>-1</sup>		
		Fev	Mai	Total	Fev	Mai	Total
CM 3	28.25	2163 <sup>Aab</sup>	585 <sup>Bab</sup>	2748 <sup>a</sup>	2905 <sup>Aab</sup>	1119 <sup>Bab</sup>	4024 <sup>b</sup>
CM 23	21.92	1177 <sup>Ac</sup>	257 <sup>Bb</sup>	1434 <sup>c</sup>	1566 <sup>Ac</sup>	475 <sup>Bb</sup>	2041 <sup>d</sup>
CM 34	28.83	1532 <sup>Aabc</sup>	548 <sup>Bab</sup>	2080 <sup>b</sup>	2128 <sup>Abc</sup>	967 <sup>Bab</sup>	3095 <sup>c</sup>
CM 37	38.50	1829 <sup>Aabc</sup>	1219 <sup>Ba</sup>	3048 <sup>a</sup>	2395 <sup>Abc</sup>	1867 <sup>Ba</sup>	4262 <sup>b</sup>
CM 43	28.08	1749 <sup>Aabc</sup>	286 <sup>Bb</sup>	2035 <sup>b</sup>	2374 <sup>Abc</sup>	549 <sup>Bb</sup>	2923 <sup>c</sup>
CM 57	27.92	1632 <sup>Aabc</sup>	692 <sup>Bab</sup>	2324 <sup>b</sup>	2198 <sup>Abc</sup>	1673 <sup>Bab</sup>	3871 <sup>bc</sup>
CM 69	19.25	1463 <sup>Aabc</sup>	512 <sup>Bab</sup>	1975 <sup>b</sup>	1929 <sup>Abc</sup>	984 <sup>Bab</sup>	2913 <sup>c</sup>
CM 75	64.25	2261 <sup>Aa</sup>	972 <sup>Bab</sup>	3233 <sup>a</sup>	3735 <sup>Aa</sup>	2161 <sup>Ba</sup>	5896 <sup>a</sup>
CM 76	64.83	1656 <sup>Aabc</sup>	1306 <sup>Ba</sup>	2962 <sup>a</sup>	2657 <sup>Aabc</sup>	1810 <sup>Ba</sup>	4467 <sup>b</sup>
CM 78	64.17	1736 <sup>Aabc</sup>	1243 <sup>Ba</sup>	2979 <sup>a</sup>	2690 <sup>Aabc</sup>	2053 <sup>Ba</sup>	4743 <sup>b</sup>
<b>Médias</b>		1720	762		2458	1366	

Massa seca de folhas CV(coeficiente de variação) =29.82%. Massa seca total CV= 26.33%. As letras maiúsculas comparam as médias nas linhas e as letras minúsculas comparam as médias nas colunas. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

A maior massa seca de folhas e total foram observadas nos genótipos de *M. arvensis* (CM 75, CM 76, CM 78), *M. canadensis* and *Mentha x piperita* L. (CM 3). Os genótipos de *M. arvensis* e a *M. canadensis* (CM 37) foram colhidos em plena floração, quando a estrutura da planta geralmente é alterada devido à senescência das folhas velhas. Isto não ocorreu com a *M. canadensis*, como pode ser verificado pela relação massa seca de folhas/massa seca total (Tabela 3). Apesar da senescência foliar a correlação com a produtividade de óleo essencial é mantida positiva o que justifica a colheita em plena floração (ROHLOFF *et al.*, 2005). A *M. x piperita* L. (CM 69) apresentou os menores índices de produção de massa seca de folhas e total em função das suas características de baixa altura de planta e crescimento prostrado evidenciados pelas relação MSF/MST. Apesar das cultivares de *M. arvensis* terem apresentado os valores mais elevados de massa seca total neste trabalho, estes foram significativamente menores do que os obtidos comercialmente na Índia variando estes de 5.14 a 8.25 t/ha (SRIVASTAVA, *et al.*, 2002).

**Tabela 3.** Relação massa seca de folha (MSF) / massa seca total (MST) dos genótipos de menta em 2 colheitas.

Genótipos	MSF / MST		
	Fev	Mai	Média
CM 3	0,73 <sup>Aa</sup>	0,50 <sup>Bab</sup>	0,62 <sup>ab</sup>
CM 23	0,74 <sup>Aa</sup>	0,56 <sup>Bab</sup>	0,65 <sup>ab</sup>
CM 34	0,72 <sup>Aa</sup>	0,59 <sup>Bab</sup>	0,65 <sup>ab</sup>
CM 37	0,76 <sup>Aa</sup>	0,66 <sup>Ba</sup>	0,71 <sup>a</sup>
CM 43	0,73 <sup>Aa</sup>	0,49 <sup>Bab</sup>	0,61 <sup>ab</sup>
CM 57	0,75 <sup>Aa</sup>	0,42 <sup>Bb</sup>	0,58 <sup>b</sup>
CM 69	0,74 <sup>Aa</sup>	0,51 <sup>Bab</sup>	0,63 <sup>ab</sup>
CM 75	0,60 <sup>Aa</sup>	0,54 <sup>Bab</sup>	0,57 <sup>b</sup>
CM 76	0,63 <sup>Aa</sup>	0,59 <sup>Bab</sup>	0,61 <sup>ab</sup>
CM 78	0,63 <sup>Aa</sup>	0,60 <sup>Bab</sup>	0,61 <sup>ab</sup>
<b>Média</b>	0,70	0,55	

MSF / MST CV=13.89%.

As letras maiúsculas comparam as médias nas linhas e as letras minúsculas comparam as médias nas colunas. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

Diferenças significativas foram observadas entre o conteúdo de óleo essencial dos genótipos e das épocas de colheita (Tabela 4). O conteúdo de óleo essencial variou entre (0,8 e 5,3%) e foi maior em fevereiro (2,7%) do que em maio (1,5%). As condições ambientais do verão como dias longos e temperatura alta favoreceram a biossíntese de óleo essencial. Isto pode ser explicado pelo aumento da biomassa associado à conversão metabólica do carbono fotossintético na rota de biossíntese de óleo essencial (KHANUJA *et al.*, 2000). Resultados similares foram reportados em condições de elevada altitude em Curitiba, onde houve um decréscimo de 50 % na produção de óleo essencial (OE) na colheita de inverno (DESCHAMPS *et al.*, 2008). Estudos sobre a influência do fotoperíodo em menta correlacionam a presença de dias longos com a indução do florescimento (SANGWAN *et al.*, 2001). De fato, em fevereiro todos os genótipos de menta estavam em pleno florescimento enquanto que em maio somente *M. arvensis* e *M. canadensis* haviam atingido o estágio de botão floral. Além das condições ambientais a senescência das folhas velhas causada pelo florescimento induziu uma redução de área foliar com um consequente aumento na densidade de glândulas de óleo aumentando sua acumulo.

**Tabela 4.** Teor de óleo essencial (OE) (%), produtividade de óleo essencial (L ha<sup>-1</sup>) dos genótipos de menta em duas épocas de colheita.

Genótipos	Teor de OE (%)		Produtividade de OE (L ha <sup>-1</sup> )			
	Fev	Mai	Fev	Mai	Média	Total
CM 3	2.8 <sup>Abc</sup>	1.2 <sup>Bbc</sup>	81.9 <sup>Ab</sup>	13.9 <sup>Bbc</sup>	47.6 <sup>b</sup>	95.1
CM 23	2.1 <sup>Abcd</sup>	1.3 <sup>Bbc</sup>	31.8 <sup>Ade</sup>	5.8 <sup>Bc</sup>	18.8 <sup>c</sup>	37.6
CM 34	2.5 <sup>Abc</sup>	1.4 <sup>Bc</sup>	51.5 <sup>Acd</sup>	12.0 <sup>Bbc</sup>	31.8 <sup>bc</sup>	63.5
CM 37	5.3 <sup>Aa</sup>	3.5 <sup>Ba</sup>	125.8 <sup>Aa</sup>	61.1 <sup>Ba</sup>	93.45 <sup>a</sup>	186.9
CM 43	2.9 <sup>Abc</sup>	2.2 <sup>Bab</sup>	67.4 <sup>Abc</sup>	11.4 <sup>Bbc</sup>	39.4 <sup>bc</sup>	78.8
CM 57	3.4 <sup>Ab</sup>	0.8 <sup>Bc</sup>	72.9 <sup>Abc</sup>	14.8 <sup>Bbc</sup>	43.8 <sup>bc</sup>	87.7
CM 69	1.6 <sup>Acd</sup>	0.9 <sup>Bc</sup>	27.6 <sup>Ae</sup>	8.1 <sup>Bc</sup>	17.8 <sup>c</sup>	35.7
CM 75	2.1 <sup>Abc</sup>	1.2 <sup>Bc</sup>	81.9 <sup>Ab</sup>	23.3 <sup>Bbc</sup>	52.6 <sup>bc</sup>	105.2
CM 76	2.2 <sup>Abc</sup>	1.5 <sup>Bbc</sup>	56.8 <sup>Ac</sup>	33.6 <sup>Bb</sup>	45.6 <sup>b</sup>	90.4
CM 78	2.2 <sup>Abc</sup>	1.4 <sup>Bbc</sup>	57.4 <sup>Ac</sup>	28.1 <sup>Bbc</sup>	42.8 <sup>bc</sup>	85.4
<b>Média</b>	2.7	1.5	65.4	21.2		

Teor de OE CV= 25.33%. Produtividade de OE CV=23.13%.

As letras maiúsculas comparam as médias nas linhas e as letras minúsculas comparam as médias nas colunas. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

O teor mais elevado de OE foi observado em *Mentha canadensis* L. (CM 37) em ambas as colheitas (5,3 % em fevereiro e 3,5% em maio). Duas *M. canadensis* L. estudadas na Finlândia (AFLATUNI, 2005) alcançaram teor de óleo essencial entre 1,7 e 2,8% enquanto outras duas *M. canadensis* L. avaliadas nas condições de Brasília, Brasil, apresentaram teores de OE entre 2,03 e 4,17% durante a estação seca (GRACINDO *et al.*, 2006). Quando estudado em Curitiba (940 m) este genótipo apresentou um menor teor de OE (2.8%) (MONTEIRO, 2009). A correlação da altitude com a maior radiação UV e seu efeito no metabolismo secundário foi descrita em *M. piperita*, aumentando o teor de óleo essencial durante o dia em função da radiação UV-A, enquanto à noite foi observada uma redução (MAFFEI *et al.*, 1999).

Os relatos indianos sobre produtividade de OE e de mentol em *M. arvensis* são superiores aos obtidos neste estudo. Srivastava *et al.* (2002) descrevem produtividades de OE e de mentol variando de 99,5 a 165 kg ha<sup>-1</sup> e de 72,5 to 101 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. No entanto, os teores de OE (%) indianos foram inferiores (0,7 a 0,9%) assim como os teores de mentol 66.7 to 76%. Portanto, pode-se concluir que o fator limitante da produção de óleo e de mentol neste trabalho foi a

produção de biomassa (MST) uma vez que os valores obtidos aqui foram equivalentes a um terço das médias indianas.

**Tabela 5.** Produtividade de Mentol ( $L\ ha^{-1}$ ) das espécies de menta em duas épocas de colheitas.

Genótipo	Denominação	Fev	Mai	Média	Total
CM 3	<i>Mentha x piperita</i> L.	32.8 <sup>Acde</sup>	9.3 <sup>Bcd</sup>	21.1 <sup>cd</sup>	42.1
CM 23	<i>Mentha x piperita</i> L.	12.7 <sup>Ag</sup>	3.3 <sup>Bd</sup>	7.9 <sup>e</sup>	16.0
CM 34	<i>Mentha sylvestris</i> L.	24.5 <sup>Aef</sup>	5.6 <sup>Bd</sup>	15.1 <sup>de</sup>	30.1
CM 37	<i>M. canadensis</i> L.	110.2 <sup>Aa</sup>	56.6 <sup>Ba</sup>	83.4 <sup>a</sup>	166.8
CM 43	<i>Mentha piperita</i> L.	28.7 <sup>Ade</sup>	5.5 <sup>Bd</sup>	17.1 <sup>de</sup>	34.2
CM 57	<i>Mentha</i> sp.	8.7 <sup>Ag</sup>	5.5 <sup>Bd</sup>	7.6 <sup>e</sup>	14.2
CM 69	<i>Mentha piperita</i> L.	13.9 <sup>Afg</sup>	4.2 <sup>Bd</sup>	9.1 <sup>e</sup>	18.1
CM 75	<i>Mentha arvensis</i> L.	62.2 <sup>Ab</sup>	17.9 <sup>Bbc</sup>	46.1 <sup>b</sup>	80.1
CM 76	<i>Mentha arvensis</i> L.	40.5 <sup>Ac</sup>	25.1 <sup>Bb</sup>	32.8 <sup>b</sup>	65.6
CM 78	<i>Mentha arvensis</i> L.	38.8 <sup>Accl</sup>	20.1 <sup>Bbc</sup>	29.5 <sup>bc</sup>	58.9
<b>Média</b>		37.3 A	15.3 B		

Produtividade de Mentol CV= 19.89%.

As letras maiúsculas comparam as médias nas linhas e as letras minúsculas comparam as médias nas colunas. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

Os resultados de produtividade de OE (Tabela 4) e de mentol (Tabela 5) tiveram influência dos genótipos e das épocas de colheita. Os maiores valores de produtividade de OE e de mentol foram obtidos na colheita de fevereiro e com o genótipo *M. canadensis* L. em ambas as colheitas (MC 37).

Monteiro (2009) em Curitiba, com a mesma cultivar registrou produtividades maiores de OE ( $149,4\ L\ ha^{-1}$ ) e de mentol ( $126,7\ L\ ha^{-1}$ ), apesar de teores de OE (2,7%) e de mentol (85,6%) menores. Novamente, a diferença está num resultado de biomassa melhor (MST).

Na Finlândia, as cultivares de *M. canadensis* L, Cornmint e Sakhalin apresentaram produtividade média de OE entre 10 a 51  $Kg\ ha^{-1}$  em três colheitas. Neste caso, o baixo teor de OE aliado a reduzida biomassa (MST) foram responsáveis pela limitação da produtividade de OE (AFLATUNI, 2005). *Mentha x piperita* L. (CM 3) and *Mentha* sp. (CM 57) apresentaram bom potencial para a produção de OE, porém os teores de mentol foram baixos.

Os principais constituintes do OE são apresentados na Tabela 6. Os maiores teores de mentol foram obtidos na segunda colheita (maio), para todos os genótipos com exceção da *M. sylvestris* L. enquanto os seus precursores diretos mentona e seu isômero neomentol foram inferiores. Em contraste, as características do OE extraído em fevereiro podem ser descritas como “imaturo”, com baixos teores de mentol e elevados de mentona (WILDUNG & CROTEAU, 2005).

**Tabela 6.** Composição qualitativa e quantitativa do óleo essencial (OE) dos genótipos de menta em duas épocas de colheita.

Fevereiro							
Genótipo	Mentol	Mentona	Neomentol	Acetato de Metila	Pulegona	1.8 cineol	Limoneno
CM* 3	40.4 d	35.9 b	9.0 ab	1.44 b	2.80 c	4.20 a	0.46 bcd
CM 23	39.7 d	32.9 bc	12.0 a	1.82 b	-	4.22 a	-
CM 34	47.6 d	26.5 c	8.9 ab	1.57 b	4.97 b	3.58 a	-
CM 37	89.6 a	2.6 e	3.0 c	-	-	-	0.51 abcd
CM 43	42.6 d	29.9 bc	10.9 ab	1.52 b	3.39 bc	3.80 a	0.50 abcd
CM 57	12.0 e	56.8 a	8.6 ab	1.75 b	14.01 a	3.64 a	0.11 d
CM 69	50.5 cd	13.0 d	8.4 bc	9.92 a	2.51 c	1.95 a	0.85 abc
CM 75	75.9 ab	10.4 de	6.4 bc	3.47 b	-	-	0.24 cd
CM 76	71.2 b	16.2 d	7.2 abc	2.35 b	-	-	0.63 abc
CM 78	67.6 bc	17.1 d	8.9 ab	3.07 b	-	-	0.94 ab
Maio							
Genótipo	Mentol	Mentona	Neomentol	Acetato de Metila	Pulegona	1.8 cineol	Limoneno
CM* 3	66.93 bcd	15.36 b	5.57 b	1.95 e	0.30 c	3.28 a	1.15 a
CM 23	57.53 cde	14.80 bc	3.30 b	10.35 bc	-	1.20 a	-
CM 34	46.70 ef	10.73 bcd	6.03 ab	10.93 b	4.04 a	2.40 a	-
CM 37	92.69 a	2.20 e	2.95 b	-	-	-	0.31 bc
CM 43	48.44 ef	11.56 bcd	10.41 a	9.80 bc	3.59 a	2.69 a	0.92 ab
CM 57	37.33 f	26.00 a	4.57 b	4.70 de	5.84 a	2.34 a	0.09 c
CM 69	51.78 ef	3.63 de	5.89 ab	25.92 a	1.28 b	1.90 a	1.13 ab
CM 75	76.76 ab	4.98 de	6.86 ab	9.07bcd	-	-	0.60 ab
CM 76	74.59 bc	6.69 cd	7.23 ab	5.76 cd	-	-	0.36 bc
CM 78	71.93 bc	6.30 cde	7.09 ab	9.50 bc	-	-	0.62 ab
CV%	13.88	20.95	25.81	15.43	13.60	18.39	24.75

As letras maiúsculas comparam as médias nas linhas e as letras minúsculas comparam as médias nas colunas. Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo Teste de Tukey ao nível de 5%.

A enzima mentona redutase é a responsável pela conversão da mentona em mentol (CROTEAU *et al.* 2005). Esta reação enzimática costuma ocorrer nos estádios mais avançados do desenvolvimento foliar (15-55 days), enquanto que

elevados teores de mentona são típicos de nas folhas mais novas (RIOS – ESTEPA *et al.*, 2008; WILDUNG & CROTEAU, 2005). Este fato, explica a relação inversa nas duas colheitas dos teores de mentol/mentona, uma vez que na colheita de fevereiro houve grande senescência das folhas velhas com a concomitante floração, reduzindo a taxa de folhas velhas (maduras) e novas (imaturas) (dados não apresentados). A correlação negativa entre os teores de mentol e os de mentona e neomentol observados em fevereiro, também foi descrita em *M. arvensis* como resultado da influência de fotoperíodo com dias longos (SANGWAN *et al.*, 2001).

A presença do constituinte acetato de metila é descrita como indesejável no OE de menta por depreciar suas propriedades organolépticas e por promover maior probabilidade de oxidação. Seu teor no OE é usado como indicativo comercial de OE denominados “over mature”, ou seja, o mentol formado já foi convertido em acetato de metila (WILDUNG & CROTEAU, 2005). Esta fase de maturação do óleo essencial ocorre paralelamente à plena floração aumentando os teores de mentol e acetato de metila como ocorreu na colheita de maio (RIOS – ESTEPA *et al.*, 2008; ROHLOFF *et al.*, 2005). Os teores mais elevados de acetato de metila em maio podem sugerir que uma antecipação na colheita possa contribuir para melhorar a qualidade comercial do OE. No caso da *Mentha x piperita* L. (CM 69) sendo os elevados teores de acetato de metila em ambas as colheitas deduz-se que esta seja uma característica genotípica. *M. canadensis* L. não apresentou a presença de acetato de metila em nenhuma das colheitas.

Baixos teores de pulegona e 1,8-cineol foram observados no OE dos genótipos de *M. piperita* estando ausentes nos genótipos de *M. canadensis* e *M. arvensis*. A pulegona juntamente com o mentofurano (não presente) são produzidos e acumulados de acordo com o nível de estresse ambiental (WILDUNG & CROTEAU, 2005). Dessa forma, pode-se presumir que os genótipos das espécies de *M. canadensis* e *M. arvensis* tiveram boa adaptação às condições ambientais do experimento.

O limoneno é um precursor primário da rota biossintética do mentol (RIOS – ESTEPA *et al.*, 2008) e foi detectado em baixos teores (aproximadamente 1%) em todos os genótipos, provavelmente em função do estágio ontogênico à época da colheita.



Outros constituintes identificados em teores menores de 0.3% nas amostras de OE foram: isomentol, isopulegona, isomentona, linalol,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, sabineno, mirceno, piperitona, 3-octanol, (*E*)-cariofileno,  $\beta$ -germacreno and biciclogermacreno.

O genótipo *M. canadensis* L. (CM 37) apresentou os resultados mais elevados de teor de mentol em ambas as colheitas (89,6 and 92,7%). Estes resultados foram superiores aos obtidos por Monteiro, (2009), com o mesmo genótipo, em Curitiba, Brasil e também maiores que os obtidos em estudo de germoplasma de menta com 18 genótipos na Índia, onde o teor mais alto foi de 83,8% (SHASANY *et al.* (2010). Em Brasília outra *M. canadensis* L. (CM 20) foi caracterizada com 65% de mentol (GRACINDO *et al.*, 2006). Estes relatos confirmam o potencial do genótipo *M. canadensis* L. para a produção de mentol nas condições locais.

Os resultados de teor de mentol nas *M. arvensis* (CM 75, 76 e 78) também foram elevados e estão de acordo com o descrito por Srivastava *et al.* (2002) para 3 *M. arvensis* em dez localidades, com variações entre 66,7% a 76%. No entanto, mais recentemente também na Índia, Anwar *et al.* (2010) registraram teores de mentol entre 77,6 e 82,4% em 6 cultivares avaliadas.

As *Mentha x piperita* L. (CM 3 and CM 23) também foram estudadas em Brasília, Brasil por Gracindo *et al.* (2006) com a determinação de teores de mentol variando de 38,0 a 43,0%, menthone de 11,4 a 20,6% e de neomenthol de 1,9 a 4,7%, respectivamente. No entanto, foram detectados 16,2% de carvona na CM 3 e 1.0% de limoneno na CM 23, o que não aconteceu neste trabalho.

### **3.4 CONCLUSÃO**

Os resultados obtidos demonstram que o cultivo de menta com duas colheitas, para a produção de óleo essencial e de mentol, no Litoral norte catarinense é viável. A colheita de fevereiro favorece a produção de óleo essencial com ligeira redução no teor de mentol. *M. canadensis* L. pode ser recomendada para a produção local de mentol. O desafio para a obtenção de maior produtividade de óleo essencial e de mentol depende do desenvolvimento de práticas agronômicas inovadoras como estratégias para aumentar a produção de biomassa.

### **AGRADECIMENTO**

Os autores agradecem ao Dr. Roberto F. Vieira e Djalma B. Silva da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília - DF, pelo envio do material vegetal usado no experimento.

## REFERENCIAS

ADAMS, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, 4<sup>th</sup> ed. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL. 2007.

AFLATUNI, A. The yield and essential oil content of mint (*Mentha ssp.*) in Northern Ostrobothnia. 50 f. 2005. Dissertation (Master) - University of Oulu, Finland, 2005.

ANWAR, M.; CHAND, S.; AND PATRA, D.D. Effect of graded levels of NPK on fresh herb yield, oil yield and oil composition of six cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis* Linn.). **Indian J. of Nat. Prod. And Resources**. v. 1, p. 74-79, 2010.

BIZZO, H.R.; HOVELL A.M.C.; AND REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: Aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quím. Nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.

CHANG, T.H.; HSIEH, F.L.; KO, T.P.; TENG, K.H.; LIANG, P.H.; WANG, A.H.-J. Structure of a Heterotetrameric Geranyl Pyrophosphate Synthase from Mint (*Mentha piperita*) Reveals Intersubunit Regulation. **The Plant Cell**, v. 22, p. 454-467, 2010.

GERSHERZON, J.; McCONKEY, M. E.; CROTEAU, R.B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiol.**, v. 122, p. 205-213, 2000.

CROTEAU, R.B.; DAVIS, E.M.; RINGER K.L. AND WILDUNG, M.R. Menthol biosynthesis and molecular genetics. **Naturwissenschaften**. v. 92, p. 562-577, 2005.

DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J. L.; ROSWALKA, L.; OLIVEIRA, M. de C.; BIZZO, R.; ALQUINI, Y. Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquatica* L. **Ciência e Natura**, v. 28, n. 1, p. 23-34, 2006.

DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J.L.; BIZZO, H.R.; OLIVEIRA, M.C. AND ROSWALKA, L.C. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em espécies de *Mentha*. **Ciênc. Agrotec.**, v. 32, p. 725-730, 2008.

DOOL, H.V.D AND KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J. Chromatogr.**, v.11, p.463-471, 1963.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Sistema Brasileiro de Classificação de solos**. Brasília: Embrapa Produção de Informação, 1999.

FRANZ, C. Essential oil research: past, present and future. **Flavour Fragr. J.**, v. 25, p. 112-113, 2010.

GRACINDO, L.A.M.B.; GRIZI, M.C.M.; SILVA, D.B.; ALVES, R.B.N.; BIZZO, H.R. AND VIEIRA, R.F. Chemical characterization of mint (*Mentha spp.*) germoplasm at Federal District, Brazil. **Rev. Bras. Pls. Med.**, v. 8, p. 5-9, 2006.

GRIZI, M.C.M.; SILVA, D.B.; ALVES, R.B.N.; GRACINDO, L.A.M.B. AND VIEIRA, R.F. Avaliação de genótipos de Menta (*Mentha spp.*) nas condições do Distrito Federal, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 8, p. 33-39, 2006.

GOBBO-NETO, L. LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

KHANUJA, S.P.S.; SHASANY, A.K.; SRIVASTAVA, A.; AND KUMAR, S. Assessment of genetic relationships in *Mentha* species. **Euphytica**, v. 111, p. 121-125, 2000.

MAFFEI, M.; CANOVA, D.; BERTEA, C.M.; SCANNERINI, S. UV-A effects on photomorphogenesis and essential-oil composition in *Mentha piperita*. **J. of Photoche. and Photobio.**, v. 52, p. 105-110, 1999.

MONTEIRO, R. Desenvolvimento de Menta e produção de óleo essencial sob diferentes condições de manejo. 2009, 80 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2009.

MORRIS, M. A. Commercial Mint Species Grown in the United States. In: LAWRENCE, B. M. Mint: The genus *Mentha*. CRC, Press, Boca Raton FL. 2007. cap. 3, p. 87-136.

NISSEN, O. MSTAT-C a microcomputer for design, management, and analysis of agronomic research experiments. Version 2.11, East Michigan State University, East Lansing. 1993.

PAULUS, D.; MEDEIROS, S.L.P.; SANTOS, O.S.; MANFRON, P.A.; PAULUS, E.; FABBRIN, E. Teor e qualidade do óleo essencial de Menta (*Mentha arvensis* L.) produzida sob cultivo hidropônico e em solo. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 9, p. 80-87, 2007.

RIOS-ESTEPA, R.; TURNER, G.W.; LEE, J.M.; CROTEAU, R.B.; AND LANGE, B.A. A systems biology approach identifies the biochemical mechanisms regulating monoterpenoid essential oil composition in peppermint. **PNAS**, v. 105, p. 2818-2823, 2008.

ROHLOFF, J.; DRAGLAND, S.; MORDAL R. AND IVERSEN, T. Effect of harvest time and drying method on biomass production, essential oil, and quality of peppermint (*Mentha x piperita* L.). **J. Agric. Food Chem.** v. 53, p. 4143-4148, 2005.

SANGWAN, N.S.; FAROOQI, A.H.A.; SHABIH, F.; AND SANGWAN, R.S. Regulation of essential oil in plants. **Plant Growth Regul.** v. 34, p. 3-21, 2001.

SHASANY, A.K.; GUPTA S.; GUPTA, M.K.; NAQVI, A.A.; BAHL, J.R. AND KHANUJA, S.P.S. Assessment of menthol mint collection for genetic variability and monoterpeno biosynthetic potential, **Flav. and Frag. J.** v. 25, p. 41-47, 2010.

SRIVASTAVA, R.K.; SINGH, A.K.; KALRA, A.; TOMAR, V.K.S.; BANSAL, R.P.; PATRA, D.D.; CHAND, S.; NAQVI, A.A.; SHARMA S. AND KUMAR, S. Characteristics of menthol mint *Mentha arvensis* cultivated on industrial scale in the Indi-Gangetic plains. **Ind. Crops Prod.**, v. 15, p. 189-198, 2002.

TUCKER, A.O. AND NACZI, R.F.C. *Mentha*: an overview of its classification and relationship. In LAWRENCE, B. M. Mint: The genus *Mentha*. CRC Press, Boca Raton FL. 2007. cap. 1, p. 3-41.

WILDUNG, M. R.; CROTEAU, R.B. Genetic engineering of peppermint for improved essential oil composition and yield. **Transgenic Research.** v. 14, p. 365-372, 2005.

## ANEXO 40

**Dados Meteorológicos do Capítulo 3:** SEASONAL VARIATION OF VEGETATIVE GROWTH, ESSENTIAL OIL YIELD AND COMPOSITION OF MENTHOL MINT GENOTYPES AT SOUTHERN BRAZIL. durante o período do experimento (11/08 a 05/09) registrados pelo Posto Meteorológico da instituição e encontram-se nos gráficos das Figuras 1 e 2.

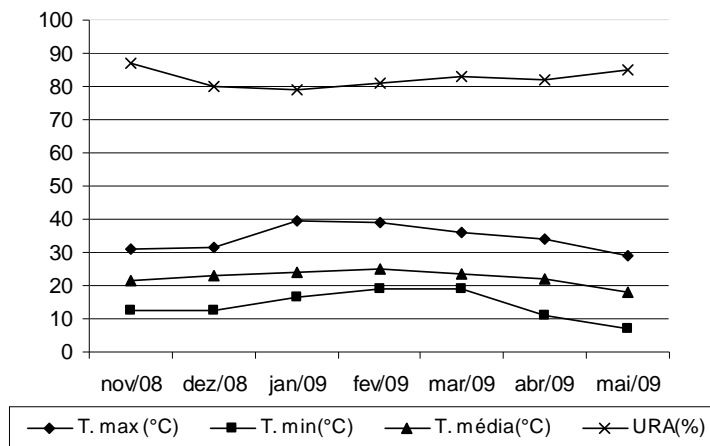


FIGURA 1. Umidade relativa do ar, temperaturas máximas, mínimas e médias, IFC- Campus Araquari, Santa Catarina, 2008 /2009.

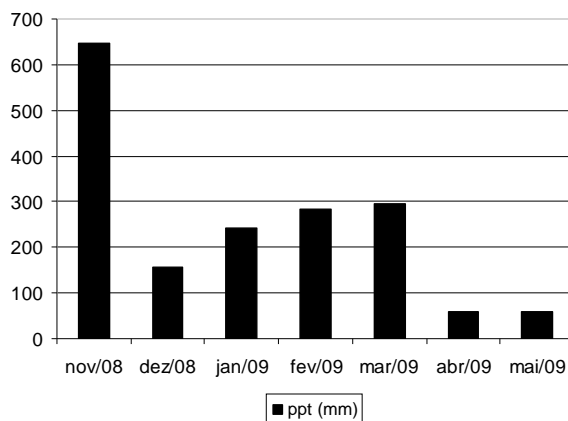


FIGURA 2. Precipitação média mensal, IFC- Campus Araquari, Santa Catarina, 2008 /2009.

## ANEXO 41

### Análise de solo do experimento do Capítulo 3: SEASONAL VARIATION OF VEGETATIVE GROWTH, ESSENTIAL OIL YIELD AND COMPOSITION OF MENTHOL MINT GENOTYPES AT SOUTHERN BRAZIL.

Análise de solo da área experimental, coletado na profundidade de 0-20 cm. IFC - Campus Araquari-SC, 2009.

Textura	pH	Índice	P	K	Mat.	Al	Ca	Mg	Na	H+Al	CTC	S. B.
		SMP			Org.							V
%argila			ppm	ppm	%(m/v)	cmolc/L	cmolc/L	cmolc/L	ppm	cmolc/L	cmolc/L	%
14,0	6,40	6,0	>50	142	5,6	0,0	8,3	2,8	14	4,36	15,89	72,56

## ANEXO 42

Fotos do Capítulo 3: SEASONAL VARIATION OF VEGETATIVE GROWTH, ESSENTIAL OIL YIELD AND COMPOSITION OF MENTHOL MINT GENOTYPES AT SOUTHERN BRAZIL.



1. Multiplicação da Coleção de Menta (CM) da Embrapa – Recursos Genéticos e Biotecnologia em casa de vegetação da UFPR, Ciências Agrárias, Curitiba, PR; 2. Propagação por estaquia em bandeja de isopor.

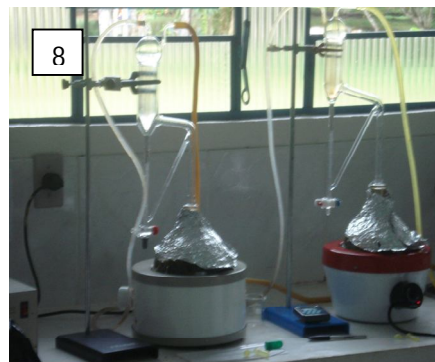


3. Mudas dos 10 genótipos prontas para transplante no experimento. 4. Transplante de mudas nos canteiros demarcados coveados e adubados.



5. e 6. Vista dos 4 blocos com 10 canteiros cada do experimento de genótipos.





**7. Colheita de parcela experimental demarcada pelo quadrato de PVC 8. Hidrodestilação Em Clevenger modificado.**



**9. Controle de pesagem para determinação de massa seca. 10. Determinação de número de folhas.**

## ANEXO 43

### Fotos do Capítulo 4 ALTERNATIVAS DE PROPAGAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Mentha canadensis* L. NO LITORAL NORTE CATARINENSE



1. Estolão de 10, 15 e 20 cm 2. Mudas de estaquia em tubetes



3. Parcela experimental com muda de estaquia 4. Parcela experimental de estolão de 20 cm



5. Vista da implantação do experimento 6 Colheita de brotação de poda (2 colheita)

## ANEXO 44

Morfologia dos Genótipos avaliados no Capítulo 3: **SEASONAL VARIATION OF VEGETATIVE GROWTH, ESSENTIAL OIL YIELD AND COMPOSITION OF MENTHOL MINT GENOTYPES AT SOUTHERN BRAZIL**



CM 3 - *Mentha x piperita* L.



CM 23 *Mentha x piperita* L.



CM 34 *Mentha sylvestris* L.



CM 37 *Mentha canadensis* L.



CM 43 *Mentha x piperita* L.



CM 57 *Mentha* sp..



CM 69 *Mentha x piperita* L.



CM 75 *Mentha arvensis* L.



CM 76 *Mentha arvensis* L.



CM 78 *Mentha arvensis* L.